

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata usando como reductores extractos de menta (*Origanum vulgare*) y cilantro (*Coriandrum sativum*), y como funcionalizante el látex de sangre de drago (*Croton lechleri*)

Disertación previa a la obtención del título de

Licenciado en Ciencias Químicas con mención en Química Analítica

MARCELO ALEXANDER SALGUERO SALAS

Quito, 2016

CERTIFICACIÓN

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas con mención en Química Analítica, del Sr. Marcelo Alexander Salguero Salas ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Fecha: 14 de septiembre de 2016

Firma del Director de la Disertación

Mtr. María Fernanda Pilaquina

A mis padres y hermana pilares fundamentales en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres y hermana por su apoyo incondicional, por guiar mi camino y ser ejemplo de trabajo duro y dedicación.

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por su aporte académico y formación personal.

A mi directora de disertación, Mtr. María Fernanda, por brindarme la oportunidad de descubrir el mundo de la nanotecnología.

A la Escuela de Química por la disponibilidad para el uso de sus laboratorios y a la Escuela de Biología-Herbario QCA por su ayuda brindada en el reconocimiento de las plantas.

A Nano instrumentos, a la Escuela Politécnica Nacional y a todos quienes permitieron llevar a cabo los correspondientes análisis.

A todos mis maestros quienes han compartido sus conocimientos, a mis compañeros de proyecto Fla, Nathy, Danny y a mis amigos Pedro, Daniel y María Isabel por todo el apoyo académico y personal brindado.

TABLA DE CONTENIDOS

CERTIFICACIÓN	ii
AGRADECIMIENTOS	iv
TABLA DE CONTENIDOS	v
LISTA DE TABLAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	5
CAPÍTULO I	8
1. MARCO TEÓRICO	8
1.1. NANOTECNOLOGÍA	8
1.2. IMPORTANCIA DE LA NANOTECNOLOGÍA	10
1.3. NANOPARTÍCULAS METÁLICAS	11
1.3.1. NANOPARTÍCULAS DE PLATA	11
1.3.2. MÉTODOS DE SÍNTESIS	13
1.4. NANOPARTÍCULAS FUNCIONALIZADAS	17
1.4.1. FUNCIONALIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS POR ADSORCIÓN ELECTROSTÁTICA	18

1.4.2.	FUNCIONALIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS POR ENLACES COVALENTES	19
1.5.	APLICACIONES DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA.....	20
1.6.	TOXICIDAD DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA	23
CAPÍTULO II.....		25
2.	MATERIALES Y MÉTODOS	25
2.1.	TOMA DE MUESTRA.....	25
2.2.	IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LAS PLANTAS	26
2.3.	PREPARACIÓN DE EXTRACTOS	26
2.3.1.	OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE MENTA	26
2.3.2.	OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE CILANTRO	27
2.4.	PREPARACIÓN DE LA SANGRE DE DRAGO	27
2.5.	SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS	27
2.5.1.	SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA CON EXTRACTO DE MENTA (Método 1).....	28
2.5.2.	SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA CON EXTRACTO DE CILANTRO (Método 2).....	28
2.6.	FUNCIONALIZACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA	29
2.7.	CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA.....	29
2.7.1.	ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO	29
2.7.1.1.	ESPECTROSCOPIA UV-VIS	30

2.7.1.2.	ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJOS (FT-IR)	33
2.7.2.	ANÁLISIS MICROSCÓPICO	36
2.7.2.1.	MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)	37
2.7.3.	DISPERSIÓN DE LUZ DINÁMICA (DLS)	39
2.7.4.	DETERMINACIÓN DE PLATA POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA DE LLAMA (FAAS)	41
CAPÍTULO III		49
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
3.1.	PREPARACIÓN DE EXTRACTOS	49
3.2.	SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA	51
3.2.1.	MÉTODO 1: REDUCCIÓN CON EXTRACTO DE MENTA	51
3.2.2.	MÉTODO 2: REDUCCIÓN CON EXTRACTO DE CILANTRO	52
3.3.	FUNCIONALIZACIÓN	53
3.4.	CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA	54
3.4.1.	ESPECTROSCOPIA UV-VISIBLE	54
3.4.2.	ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJOS POR TRANSFORMADAS DE FOURIER (FT-IR)	57
3.4.3.	MICROSCOPIA ELCTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)	64
3.4.4.	ANÁLISIS ELEMENTAL (SEM-EDX)	68
3.4.5.	DISPERSIÓN DE LUZ DINÁMICA (DLS)	72
3.4.6.	ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA DE LLAMA (FAAS)...	76

CAPÍTULO IV.....	78
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	78
4.1. CONCLUSIONES	78
4.2. RECOMENDACIONES	79
 BIBLIOGRAFÍA	 81
ANEXOS.....	90

LISTA DE TABLAS

Tabla 3.1. Tamaño de las nanopartículas de plata según la posición de los picos de absorción en el espectro UV-Vis	55
Tabla 3.2. Comparación de los tamaños de nanopartículas de plata obtenidos mediante espectroscopia UV-Vis y SEM.....	68
Tabla 3.3. Análisis elemental de la síntesis de la nanopartículas de plata efectuado por el Método 1.....	69
Tabla 3.4. Análisis elemental de la síntesis de la nanopartículas de plata efectuado por el Método 2.....	70
Tabla 3.5. Análisis elemental de la síntesis de la nanopartículas de plata efectuado por el Método 2 y funcionalizado con sangre de drago	72
Tabla 3.6. Concentración final de plata en las nanopartículas funcionalizadas y sin funcionalizar	77
Tabla A2.1. Valores de absorbancia para cada concentración de los estándares de calibración	95
Tabla A2.2. Componentes de la ecuación de la recta de regresión lineal y límites de confianza.....	95
Tabla A2.3. Absorbancia y concentraciones para los blancos	96
Tabla A2.4. Absorbancia y concentraciones para los blancos reactivos	96
Tabla A2.5. Recuperación de plata (Concentraciones de 1, 000 y 4,000 mg/L).....	97

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Esquema de la formación de nanopartículas metálicas en solución.	11
Figura 1.2. Conjugación entre una biomolécula y la superficie de la nanopartícula.....	18
Figura 1.3. Principales aplicaciones de la nanotecnología	21
Figura 2.1. Esquema de la metodología del trabajo experimental.....	25
Figura 2.2. Esquema general de un equipo UV-Visible	31
Figura 2.3. Espectrofotómetro UV-Vis, Cary 60.....	32
Figura 2.4. Tipos de vibraciones moleculares	34
Figura 2.5. Espectrofotómetro infrarrojo con interferómetro de Michelson	35
Figura 2.6. Espectrofotómetro FT-IR, Perkin Elmer Spectrum BX.....	36
Figura 2.7. Esquema de las partes de un Microscopio Electrónico de Barrido.....	38
Figura 2.8. Microscopio Electrónico de Barrido (SEM), Phenom 1255	39
Figura 2.9. Esquema de un equipo de Dispersión de Luz Dinámica.....	40
Figura 2.10. Equipo de Dispersión Dinámica de Luz 90Plus.....	41
Figura 2.11. Esquema general de un equipo de Absorción Atómica de Llama	42
Figura 2.12. Espectrofotómetro de Absorción Atómica de Llama.....	43
Figura 2.13. Representación gráfica de una curva de calibración	45
Figura 3.1. Extracto de la planta de menta (<i>Origanum vulgare</i>).....	49
Figura 3.2. Dilución 1:3 del extracto de la planta de menta (<i>Origanum vulgare</i>).....	50
Figura 3.3. Extracto de la planta de cilantro (<i>Coriandrum sativum</i>).....	50
Figura 3.4. Nanopartículas de plata sintetizadas mediante el Método 1	51
Figura 3.5. Nanopartículas de plata sintetizadas mediante el Método 2	52
Figura 3.6. Nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de cilantro funcionalizadas con sangre de drago.....	54

Figura 3.7. Espectros UV-Vis: a) Extracto de menta, b) nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de menta, c) sangre de drago y d) nanopartículas de plata funcionalizadas con sangre de drago	55
Figura 3.8. Espectro UV-Vis: a) Extracto de cilantro, b) nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de cilantro, c) sangre de drago y d) nanopartículas de plata funcionalizadas con sangre de drago	56
Figura 3.9. Espectros FT-IR: a) nitrato de plata, b) nanopartículas de plata.....	58
Figura 3.10. Espectros FT-IR: a) Extracto de menta, b) nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de menta, c) nanopartículas de plata funcionalizadas con sangre de drago y d) sangre de drago.....	59
Figura 3.11. Espectros FT-IR: a) Extracto de cilantro, b) nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de cilantro, c) nanopartículas de plata funcionalizadas con sangre de drago y d) sangre de drago.....	61
Figura 3.12. Imágenes SEM nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 1	64
Figura 3.13. Imágenes SEM nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2	66
Figura 3.14. Imágenes SEM nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2 y funcionalizadas con sangre de drago a) 6800 X b) 19000 X.....	67
Figura 3.15. Espectro EDX de nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 1.....	69
Figura 3.16. Espectro EDX de nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2.....	70
Figura 3.17. Espectro EDX de nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2 y funcionalizadas con sangre de drago	71
Figura 3.18. Histograma de distribución del diámetro hidrodinámico de: a) nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 1, b) nanopartículas de plata funcionalizadas con sangre de drago	72

Figura 3.19. Histograma de distribución del diámetro hidrodinámico de: a) nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2, b) nanopartículas de plata funcionalizadas con sangre de drago	73
Figura 3.20. Diámetro hidrodinámico de medida mediante la técnica DLS	75
Figura 3.21. Esquema referencial del posible recubrimiento de las nanopartículas de plata a) Método 1, b) Método 2	75
Figura 3.22. Curva de calibración de patrones de plata (0,0-5,0 ppm)	76

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Certificados de la identificación taxonómica de las plantas cuyos extractos se emplearon como agentes reductores para la síntesis de nanopartículas de plata.....90

Anexo 2. Acondicionamiento del método para la determinación de plata por espectrofotometría de absorción atómica de llama.....94

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue la síntesis y caracterización de nanopartículas de plata empleando como agentes reductores los extractos acuosos de hojas de menta (*Origanum vulgare*) en el denominado Método 1, y hojas de cilantro (*Coriandrum sativum*), en el Método 2, y su posterior funcionalización con el látex sangre de drago (*Croton lechleri*).

La síntesis se efectuó usando nitrato de plata de concentración 10 mM como precursor y los extractos acuosos de hojas de menta y cilantro como reductores. La funcionalización fue llevada a cabo por mezcla, en proporción 1:1, de las nanopartículas de plata obtenidas en cada método, con el látex de sangre de drago. Por espectroscopia UV-Vis e infrarroja (FT-IR, por sus siglas en inglés) se comprobó la efectividad de las síntesis, así como también de la funcionalización. El tamaño, morfología y dispersión se determinó por Microscopía Electrónica de Barrido y Dispersión de Luz Dinámica (SEM/EDX y DLS respectivamente, por sus siglas en inglés). Mediante Espectroscopia de Absorción Atómica de Llama (FAAS, por sus siglas en inglés), se establecieron las concentraciones.

Los picos de absorción máxima, determinados por espectroscopia UV-Vis, aparecieron a 429 nm y 422 nm, respectivamente para los Métodos 1 y 2; y a 444 nm y 439 nm para las nanopartículas funcionalizadas para cada método. Estos valores confirman la presencia de AgNPs debido a la resonancia del plasmón superficial característica de estas nanopartículas. Además, las modificaciones en las bandas de los espectros (FT-IR) son señal evidente del recubrimiento que tiene lugar en las NPs. Para el Método 1: el tamaño promedio de las nanopartículas de plata obtenidas en la síntesis fue de 92 nm, con un tamaño hidrodinámico

de 244,4 nm y 911,97 ppm de contenido de plata; y para su funcionalización: 270,6 nm de tamaño hidrodinámico y 910,21 ppm. Estos valores, para el Método 2, fueron de 50 nm, 259,0 nm de tamaño hidrodinámico y 830,54 ppm de plata; y para su funcionalización 72 nm, 294,3 nm y 828,20 ppm, respectivamente. En todos los casos se observaron partículas esféricas con moderada dispersión.

Se determinó que, el tamaño promedio de las nanopartículas funcionalizadas resulta mayor con respecto al de las nanopartículas sin funcionalizar; sin embargo, su morfología y dispersión no se modifican en gran medida; por ende, las propiedades características de las nanopartículas de plata no se ven afectadas, confiriendo así, un efecto sinérgico debido a las cualidades inherentes que posee el látex de sangre de drago. Además, no se evidencia pérdida alguna de la cantidad de plata presente, debido al proceso de recubrimiento de las nanopartículas. Por tanto, la funcionalización de las nanopartículas de plata, es viable para ambos métodos de síntesis.

Palabras clave: Nanopartículas de plata, Cilantro, Menta, Sangre de drago, UV-Vis, FT-IR, SEM-EDX, DLS, FAAS.

ABSTRACT

The main goal in this study was the synthesis and characterization of silver nanoparticles using aqueous extracts of mint leaves (*Origanum vulgare*) –Method 1, and coriander (*Coriandrum sativum*) –Method 2, and its functionalization with dragon's blood latex (*Croton lechleri*).

The synthesis used a 10mM solution of silver nitrate as precursor, and the aqueous extracts of mint leaves and coriander were used as reducing agents. Functionalization was carried out through mixture in 1:1 proportion of the obtained nanoparticles, in each method, with dragon's blood latex. UV-Vis Spectroscopy and Infrared Spectroscopy (FTIR) was used to verify the formation of nanoparticles and also its functionalization. Size, morphology and dispersion were determined by Scanning Electron Microscopy (SEM / EDX) and Dynamic Light Scattering (DLS). Flame Atomic Absorption Spectroscopy (FAAS) was used to estimate silver concentrations.

Maximum absorption peaks, using UV-Vis Spectroscopy, appeared at 429 nm and 422 nm, respectively for Methods 1 and 2, and 444 nm and 439 nm for the functionalized nanoparticles for each method. These values confirmed the presence of AgNPs due to the surface plasmon resonance, characteristic of these nanoparticles. Also, changes in the spectra absorption bands (FT-IR) from extracts are a clear signal of the coating in the nanoparticles. Average size of the synthesized nanoparticles in Method 1 was 92 nm, hydrodynamic size of 244,4 nm and 911,97 ppm of silver concentration; for its functionalization the hydrodynamic size was 270,6 nm and 910,21 ppm. The values for nanoparticles obtained by

Method 2 were 50 nm, 259,0 nm and 830,54 ppm; and for its functionalization were 72 nm, 294,3 nm and 828,20 ppm. In all cases, the nanoparticles were spherical with moderate dispersion.

It was determined that the average size of functionalized nanoparticles is greater than the one that were not functionalized. However, its morphology and dispersion remains practically the same, therefore, characteristic properties of silver nanoparticles are not affected. Thus, there is a synergistic effect due the inherent qualities of dragon's blood latex. There is no evident loss in the silver quantity due to the coating processes. Consequently, the silver nanoparticles functionalization is viable for both synthesis methods.

Keywords: Silver nanoparticles, Coriander, Mint, Dragon`s blood, UV-Vis, FT-IR, SEM-EDX, DLS, FAAS.

INTRODUCCIÓN

Gracias al perfeccionamiento tecnológico, el hombre ha sido capaz de manipular la materia a escala nanométrica, desencadenando así, el desarrollo y mejora de nuevos materiales denominados nanomateriales (partículas con diámetro de hasta 100 nm), los cuales poseen propiedades únicas de coloración, reactividad química, relación área-volumen, entre otras, que permiten un sin número de nuevas aplicaciones. Además, algunos metales nobles como la plata, el oro y el platino, presentan también propiedades bactericidas. Específicamente, la plata provoca el mencionado efecto por los cambios de estructura que puede generar sobre la membrana bacteriana [1].

El empleo de nanopartículas de plata (AgNPs), se ha dado desde hace siglos de manera no intencionada. El ejemplo más representativo que se puede citar es la copa de Lycurgus del siglo IV, formada por un vidrio coloreado que dispersa luz verde y transmite luz roja, debido a que contiene nanopartículas metálicas de unos 70 nm de una aleación de plata y oro en proporción 70:30 % [2].

Este tipo de nanopartículas metálicas pueden ser sintetizadas mediante una gran variedad de métodos, ya sean físicos, químicos o biológicos. Se ha comprobado que el empleo de extractos de plantas como agentes reductores presenta varias ventajas, entre ellas, que son fácilmente disponibles, seguros, no tóxicos y en la mayoría de casos, tienen una amplia variedad de metabolitos que, además de facilitar la reducción de iones plata, aportan propiedades medicinales; dicha reducción, ocurre esencialmente por acción de los principios activos tales como las flavonas, ácidos carboxílicos y quinonas, aunque el mecanismo exacto

de cada planta varía dependiendo de los compuestos químicos involucrados, siendo el principal mecanismo la reducción de iones [3].

Para el proceso de funcionalización de las nanopartículas, el cual se refiere al recubrimiento, mezcla o modificación con un compuesto específico, es posible emplear extractos de plantas.

Aprovechando el poder bactericida de la plata a nanoescala y las propiedades farmacológicas de los extractos vegetales, se sintetizaron nanopartículas de plata con extractos naturales de menta (*Origanum vulgare*) y de cilantro (*Coriandrum sativum*), y se funcionalizaron con el látex de la sangre de drago (*Croton lechleri*) para sus posibles aplicaciones médicas.

A continuación, se muestra la distribución de este trabajo para una mejor comprensión del mismo:

En el Capítulo I se encuentra una descripción generalizada del tema, abordando conceptos básicos como la nanotecnología, nanociencia y nanomateriales. También, se indican los métodos de síntesis de nanopartículas de plata y sus aplicaciones más relevantes.

En el Capítulo II, se especifican los métodos de síntesis de nanopartículas de plata empleando como agentes reductores extractos de plantas: extracto de menta y de cilantro, así como el método de funcionalización con el látex de sangre de drago. Además, se detallan las técnicas para su caracterización: espectroscopia UV-Vis, de Infrarrojos por Transformada de Fourier (FTIR), Microscopia Electrónica de Barrido (SEM), Dispersión de Luz Dinámica (DLS) y espectroscopia de Absorción Atómica de Llama (FAAS).

El Capítulo III muestra los resultados obtenidos en la investigación con su respectiva discusión para un mejor entendimiento.

Por último, en el Capítulo IV se presentan las conclusiones y las recomendaciones para la presente investigación.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. NANOTECNOLOGÍA

El prefijo “nano” proveniente del griego (enano), se refiere a algo muy pequeño e indica la milmillonésima parte del metro (nanómetro) [4]. Los avances tecnológicos para este campo específico se han dado aproximadamente desde los años 80, con el desarrollo del microscopio de barrido de efecto túnel, con el cual fue posible captar imágenes de la estructura atómica de la materia. Esta manipulación de la materia abrió nuevas posibilidades en el campo de la ciencia de nuevos materiales [5]. De esta forma nació el concepto de los nanomateriales, definidos como aquellos materiales cuyas partículas tienen un diámetro entre 1-100 nanómetros (nm) [4], y que manifiestan propiedades mecánicas, físicas o químicas superiores a los materiales convencionales. Estas propiedades, tienen relación directa con la forma, tamaño, composición y estructura de la nanopartícula [6].

El verdadero potencial de los nanomateriales está en el excepcional comportamiento que presentan debido a su tamaño tan reducido. Entre las propiedades que en mayor medida se ven influenciadas por el tamaño de la materia se pueden citar: conductividad eléctrica, conductividad térmica, color, reactividad química y resistencia [7].

El término nanomateriales, está ligado a la nanociencia, el cual se refiere al estudio y diseño de materiales a escala nanométrica en diversas áreas como la biología, física, química, medicina, etc. Es decir, aquella que implica la parte teórica y experimental; mientras que,

la nanotecnología se encarga de la manipulación, desarrollo y aplicación de materiales, aparatos y sistemas funcionales a través del control de la materia a nanoescala [4].

Al momento de abordar el tema referente al desarrollo de elementos nanométricos se pueden mencionar dos métodos generales: “*top-down*” y “*bottom-up*”, de arriba hacia abajo y de abajo hacia arriba respectivamente. Estos métodos, están establecidos de forma teórica así como también de forma experimental desde el surgimiento de la nanotecnología como tal [8]. Las concepciones de la nanotecnología “*top-down*” y “*bottom-up*” coexisten. Es decir, que ninguno de los dos es absoluto sino que dependen el uno del otro. De manera muy generalizada se puede decir que derivan del mundo de la física y la química, respectivamente [9].

El método de *top-down* inicia con una pieza grande de material, consiste básicamente en disminuir el tamaño de agregación del mismo a través del grabado o molienda hasta alcanzar una nanoestructura. Con esta aproximación, es posible obtener dispositivos muy complejos con alta precisión, como microprocesadores, chips, entre otros; a pesar de ello, también tiene limitaciones intrínsecas, como la generación excesiva de desperdicios y la necesidad de mucha energía [10].

Otra manera, muy simple, para comprender de mejor manera a la nanotecnología *top-down* es con el enfoque del escultor, el cual radica en tomar un elemento de gran tamaño e ir quitando poco a poco y con cuidado ciertas partes hasta alcanzar el objeto nanométrico requerido [11].

Por su parte, el método *bottom-up*, consiste en la construcción de objetos más grandes partiendo de sus componentes atómicos y moleculares. Es decir, la obtención de un estado de agregación en proporción nanométrica a partir de una dispersión molecular o en su defecto la construcción de estructuras átomo por átomo [12]; como por ejemplo, la molécula de ADN. Este método, produce pocos desperdicios, emplea poca energía, permite controlar la forma y tamaño de la partícula [10]. Al igual que en el caso anterior, para una mejor comprensión, podemos referirnos al enfoque denominado como la aproximación del albañil el cual radica en la construcción de un objeto nanométrico a partir de bloques simples [11].

1.2. IMPORTANCIA DE LA NANOTECNOLOGÍA

Si la nanotecnología se desarrolla de forma responsable sin abuso y aprovechando la versatilidad de la misma, esta nos brinda la posibilidad de resolver muchos de los problemas que actualmente tienen gran relevancia en la humanidad, como por ejemplo las enfermedades, falta de alimentos y agua potable [13].

Se considera a la nanotecnología como una ciencia “horizontal” porque prácticamente tiene influencia, ya sea directa o indirectamente, sobre todos los sectores; es decir, tiene un enfoque interdisciplinario; por tanto, se visualiza que la nanotecnología puede ser el núcleo convergente de la ciencia, la economía y la sociedad del futuro [5].

Aquellos que promueven la nanotecnología, pronostican que esta no solo mejorará al mundo industrial sino que lo reemplazará. El progreso nanotecnológico se ha considerado como un fenómeno, el cual se advierte por su creciente aumento en las patentes y citas de la literatura

científica, esto sin duda afectará de manera positiva la demanda de materiales nanoestructurados [14].

1.3. NANOPARTÍCULAS METÁLICAS

Las nanopartículas metálicas pueden ser sintetizadas por métodos físicos, químicos o biológicos. Los métodos físicos y químicos son numerosos, pero en su mayoría son caros o utilizan sustancias tóxicas. Además, pueden ocasionar sustancias de residuo que quedan adsorbidas en la superficie, por tanto se dificulta su uso en aplicaciones de tipo médico [15].

1.3.1. NANOPARTÍCULAS DE PLATA

Faraday y Turkevich propusieron un mecanismo por el cual se da la formación de nanopartículas de plata. Mencionado mecanismo, está constituido por tres pasos fundamentales: nucleación, crecimiento y estabilización [16], como se puede apreciar en la Figura 1.1.

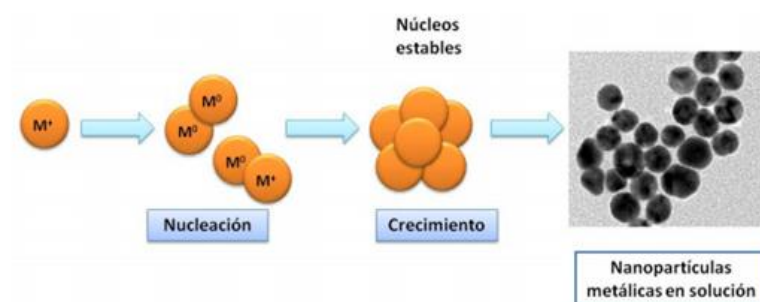


Figura 1.1. Esquema de la formación de nanopartículas metálicas en solución.

Modificado de [16]

La nucleación, se inicia cuando se da una reducción de la sal metálica por acción de un agente reductor adecuado, esto genera átomos de metal con estado de oxidación cero, estos átomos metálicos con iones metálicos desencadenan la formación de un núcleo metálico al cual se le denomina semilla [16].

El crecimiento de los núcleos, se da por difusión y transferencia de masa de los iones metálicos hacia la superficie de estos núcleos. Durante esta etapa, es necesario un control minucioso de la temperatura y la concentración ya que estos parámetros influyen de manera significativa en mencionada etapa [17].

La estabilización, depende del empleo de un agente de equilibrio, el cual actúa de manera que evita la aglomeración. El efecto se da por la repulsión entre partículas provocada por la doble capa eléctrica que se forma por los iones adsorbidos en la superficie de las nanopartículas [17].

La producción de nanopartículas de metales de transición a generado enorme interés, esto se debe a las propiedades especiales que poseen; brindando así, una amplia gama de posibles aplicaciones. Sin embargo, el metal de transición predilecto, ha sido la plata por que presenta un efecto bactericida insuperable; así como también, propiedades ópticas excepcionales, las mismas que dependen en gran medida de la forma, tamaño y dispersión de la nanopartícula formada [18].

1.3.2. MÉTODOS DE SÍNTESIS

El método Lee-Meisel [19] consiste en emplear nitrato de plata (AgNO_3) como precursor metálico y citrato de sodio como agente reductor. Las nanopartículas obtenidas mediante este método presentan una amplia distribución de tamaño, es decir, son polidispersas. Es importante recalcar que este método a su vez, nace de una modificación del método descrito por Turkevich [16] en el cual, se usa como precursor al ácido tetra cloroáurico (HAuCl_4). Por otro lado, el método Creighton [20], emplea al borohidruro de sodio (NaBH_4) como reductor conservando así al nitrato de plata como precursor, este método es el más utilizado ya que, las nanopartículas de plata que genera son de forma esférica con tamaño uniforme, aproximadamente de unos 10 nm.

Las modificaciones de estos métodos se dan por el empleo de un sin número de agentes reductores. Con respecto a los precursores, comúnmente se usa perclorato de plata (AgClO_4), ion diamino plata $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ y el nitrato de plata (AgNO_3), y los siguientes agentes estabilizantes: polímeros como el polivinil alcohol (PVA), polivinilpirrolidona (PVP), surfactantes y azúcares. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la elección del precursor, el agente reductor y el estabilizante se debe realizar con base a las características de las nanopartículas que se desean obtener, es decir, en base a la dispersión, tamaño y forma [21].

Entre los métodos físicos más comunes podemos mencionar procesos de evaporación, irradiación con microondas, electroquímicos, litográficos y por ablación láser. Estos suelen

ser muy costosos debido al requerimiento de altas cantidades de energía y equipos poco accesibles [22].

Uno de los métodos más destacados es el de ablación láser ya que permite controlar el tamaño de nanopartículas en sistemas de tipo coloidal [23]. Dicho tamaño, es controlado por la energía del láser y la velocidad de rotación del blanco sólido que se lo dispone en forma de disco. La síntesis es producida cuando el láser llega al blanco el cual estará sumergido en un líquido con el respectivo precursor. Comparada con los métodos de reducción química, esta resulta ser una técnica poco contaminante y mucho más rápida [24].

Sin duda el método de microondas es otro sobresaliente dentro de los métodos físicos puesto que, permite obtener nanoestructuras estables, de tamaño pequeño y distribución uniforme, gracias al calentamiento parejo que ayuda a la nucleación de las partículas [25].

Los métodos químicos, se emplean con mayor frecuencia ya que permiten obtener nanopartículas uniformes y de tamaño reducido. Se dan a través de la reducción de los iones metálicos hasta átomos metálicos; posteriormente, se da la agregación controlada de mencionados átomos [26].

El método químico más empleado es el de reducción química de sales metálicas, esto se debe a su sencillez y buenos resultados para la formación de nanopartículas en cuanto a su tamaño, forma y distribución [27].

Faraday para el año de 1857 fue quien publicó el primer informe acerca de la reducción química de sales de metales, en el mismo que se reporta la generación de coloides metálicos cerivalentes contenidos en un medio acuoso. Hoy en día el uso de esta técnica, para la obtención de suspensiones coloidales, sigue siendo muy común ya que sus condiciones de trabajo son a temperatura y presión ambiente [28].

Específicamente para la obtención de coloides de plata, el nitrato de plata (AgNO_3) es el precursor predilecto. En cuanto a los agentes reductores, sin lugar a dudas, el borohidruro de sodio (NaBH_4) es el más destacado ya que es un reductor fuerte y puede actuar a su vez como agente estabilizante. Además, los resultados que se obtienen en cuanto al tamaño y forma de nanopartículas son excelentes por lo que, es muy común que se tome a este agente reductor como referencia cuando se realizan comparaciones con diferentes reductores empleando el mismo precursor [29]. A pesar de ello, en los últimos años la tendencia al usar sustancias no tóxicas ha crecido considerablemente, como por ejemplo el citrato de sodio y la glucosa, los mismos que han demostrado que tienen la misma efectividad comparada con el borohidruro de sodio [30].

La reducción fotoquímica es un método químico que ha tomado impulso durante los últimos años por ser efectiva, limpia y relativamente sencilla. Así por ejemplo, se han sintetizado nanopartículas de plata en solución alcalina de quitosano carboximetilada empleando radiación UV en donde, se describe la obtención de nanopartículas de plata de un diámetro entre 2-8 nm, las cuales se muestran estables por más de seis meses [31]. Cuando la solución es acuosa, el usar radiación UV provoca la fotooxidación del agua por la excitación de los

iones metálicos presentes, lo cual desencadena, la formación de átomos metálicos para posteriormente generar las nanopartículas coloidales [8].

Dentro de los métodos biológicos, existen tres componentes principales que intervienen en la preparación de nanopartículas, estos son: el precursor metálico, el agente reductor amigable con el medio ambiente y un agente estabilizante no tóxico [32]. Entre las principales fuentes de agentes reductores biológicos tenemos: bacterias, hongos y extractos de plantas. Las enzimas microbianas y principios activos con propiedades antioxidantes o reductoras actúan sobre el compuesto precursor para formar las nanopartículas deseadas. El empleo de extractos de plantas como agentes reductores es una vía más rápida para la preparación de nanopartículas, además del aprovechamiento de sus propiedades medicinales acopladas a las mismas [3]. Por estos motivos, el presente trabajo se enfoca únicamente en los extractos de plantas como agentes reductores.

La principal ventaja de emplear extractos de plantas para la síntesis de nanopartículas de plata es que, son fácilmente disponibles, seguros, no tóxicos, facilitan la reducción de iones plata (debido a la variedad de metabolitos) y aportan propiedades medicinales. La reducción ocurre esencialmente por acción de los principios activos tales como las flavonas, ácidos carboxílicos y quinonas. El mecanismo exacto en cada planta varía dependiendo de los compuestos químicos involucrados [33].

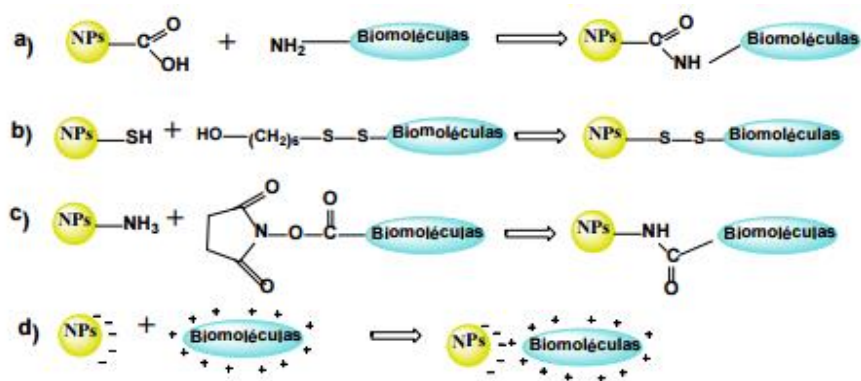
Algunos de los extractos de plantas empleados en la síntesis de nanopartículas de plata son:

Cilantro (*Coriandrum sativum*): Sus principales aplicaciones derivan del uso de sus hojas [34]. La composición química se basa principalmente en sus aceites esenciales, que contienen decanal, dodecanal, decano, huleno, cerofileno, linanol, taninos, ácido málico, y otros componentes activos entre los que se encuentran varios ácidos, linoleico, oleico, palmítico y ascórbico [35]. Una de las propiedades características del cilantro es su gran capacidad antioxidante, derivada de metabolitos secundarios como los ácidos fenólicos, flavonoides, terpenos y cumarinas [36].

Menta (*Origanum vulgare*): Las hojas se aplican en el campo farmacéutico debido a las propiedades tónicas, antisépticas, diuréticas y antiespasmódicas. Con respecto a su composición química, se han identificado flavonoides como la apigenina y la luteolina, alcoholes alifáticos, compuestos terpénicos y derivados del fenilpropano [37].

1.4. NANOPARTÍCULAS FUNCIONALIZADAS

La funcionalización de nanopartículas se refiere al recubrimiento o modificación de las mismas con la finalidad de darles una aplicación específica ya sea proporcionando nuevas funciones o potenciándolas. La funcionalización se puede dar por adsorción electrostática o mediante enlaces covalente (Figura 1.2).



Nota: a, b, c) formaci3n de enlace covalente, d) interacci3n electrostática

Figura 1.2. Conjugaci3n entre una biomol\'ecula y la superficie de la nanopartícula [38]

1.4.1. FUNCIONALIZACI3N DE NANOPARTÍCULAS POR ADSORCI3N ELECTROSTÁTICA

La adsorci3n es un tipo de funcionalizaci3n, donde las nanopartículas son recubiertas por distintas mol\'eculas o especies, sin que se den enlaces covalentes. La interacci3n que ocurre se da por fuerzas débiles de Van Der Waals [39].

Se ha determinado que gran variedad de compuestos químicos pueden ser empleados como materiales para el recubrimiento de nanopartículas como por ejemplo alcanotioles, polímeros y proteínas. Específicamente, las biomol\'eculas: peroxidasa, catalasa, tripsina, ácidos nucleicos, fármacos, estraptadivina, etc., se pueden adsorber fuertemente a las nanopartículas orgánicas e inorgánicas [38].

1.4.2. FUNCIONALIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS POR ENLACES COVALENTES

La funcionalización mediante enlaces covalentes, ocurre debido a la modificación de la estructura de la nanopartícula por medio de la introducción de átomos o grupos funcionales en su superficie. En esta el enlace covalente es generado por la interacción entre la superficie de la nanopartícula y la especie anclada en ella [39].

Un buen ejemplo de las ventajas de la funcionalización de nanopartículas es el trabajo de Ahamed *et al.* [40] en donde, realizan una comparación del efecto que provocan las nanopartículas de plata sin y con recubrimiento en células madres de ratón. En este trabajo, se demostró que, las nanopartículas recubiertas presentan mayor respuesta al daño en el ADN ya que poseen una distribución eficiente de tamaño, esto permite aumentar el número total de partículas y por tanto, la exposición del contenido celular a diferencia de las nanopartículas sin recubrir, las cuales presentan aglomeración.

En el presente trabajo, para el proceso de funcionalización se empleó el látex sangre de drago (*Croton lechleri*): el cual se utiliza para fines curativos, ya que tradicionalmente se aplica sobre la piel para mejorar las inflamaciones provocadas por las picaduras de insectos, para quemaduras y heridas. Se usa, además, para ayudar a cicatrizar las úlceras. El látex también es utilizado para curar granos, cortes y otras irritaciones de la piel. Los principios activos del látex incluyen a la taspina y alcaloides antitumorales como: piridonas, indoles, quinoleínas, tropanos, ácido graso insaturado, antraquinonas y triterpenos. El látex también contiene compuestos fenólicos con fuertes cualidades antisépticas [41].

1.5. APLICACIONES DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA

Las nanopartículas de metales nobles como la plata, adicionalmente a las propiedades mencionadas con anterioridad, tiene la particularidad de ser antibacteriales, esta propiedad es conocida y usada desde la antigüedad. Así por ejemplo, durante los siglos XVII y XVIII se la empleaba en forma de sal para el tratamiento de úlceras. Hoy en día, su uso continua para controlar el crecimiento bacteriano en una amplia variedad de aplicaciones entre las cuales destacan: trabajos dentales, catéteres y en heridas por quemaduras [2].

Varios estudios han permitido establecer a la plata como “oligodinámica” gracias a su capacidad bactericida aún en concentraciones mínimas [2]. Además, demuestran que las nanopartículas de plata presentan una actividad bactericida insuperable [18].

El mecanismo de acción bactericida de la plata a nivel nanométrico aún no ha sido elucidado, pero se plantea que este puede ser muy parecido al de la plata iónica; en donde, la plata que es altamente reactiva provoca dicho efecto por cambios estructurales en la membrana bacteriana y por su interacción con los grupos fosforilados y azufrados de varios compuestos [1].

Como ya se mencionó con anterioridad, los materiales a escala nanométrica adquieren propiedades excepcionales; aprovechando las mismas, se han desencadenado gran cantidad de aplicaciones en diversas áreas de la ciencia, como se observa en la Figura 1.3.



Figura 1.3. Principales aplicaciones de la nanotecnología [42]

Sin embargo, las aplicaciones más representativas están ligadas a nanomateriales de plata como lo indica el Proyecto en Nanotecnologías Emergentes (PEN) el mismo establece que, de los 1317 productos comerciales registrados, el 24% emplea nanoplata [42]. Según Piao *et al.* [43], esta particularidad, en gran medida se debe a la actividad antimicrobiana que presenta la plata.

Hoy en día el uso de plata a escala nanométrica está muy arraigado por lo que sus aplicaciones abarcan prácticamente todas las áreas de la ciencia, siendo las más exploradas: medicina, medio ambiente, alimentos y la industria textil.

Si bien es cierto, la actividad bactericida de la plata aporta en gran medida a las aplicaciones médicas, esta no es la única propiedad explotada para este fin, ya que existen distintas propiedades biomédicas involucradas en el uso de nanopartículas de plata como por ejemplo, la inhibición de la replicación del virus VIH-1. Se ha comprobado que empleando las nanopartículas de plata en una concentración entre 0,5 y 50 μM se ejerce una actividad antiretroviral además de la inhibición de la replicación del virus [44].

Una de las aplicaciones más comunes que se les está dando a estas nanopartículas, es como transportadores de fármacos para la liberación localizada de la droga, lo cual permite reducir la dosis del fármaco eliminando así los efectos secundarios. Es importante mencionar que, para que esta aplicación sea llevada a cabo, se necesita funcionalizar a la nanopartícula para darle propiedades magnéticas las cuales permitan guiarla a la zona afectada [45].

Por otro lado, se ha descrito su capacidad fungicida y cada día es más común encontrar muchos instrumentos y materiales que contienen o están recubiertos de nanopartículas de plata como por ejemplo: instrumentación de tipo quirúrgica, catéteres, prótesis óseas, apósitos para heridas, dispositivos anticonceptivos y vendajes que actúan como agentes cicatrizantes [46]. Estudios han demostrado que nanopartículas de plata insertadas en vendajes ejercen mayor actividad cicatrizante que la sulfadiazina de plata. Además, son capaces de controlar procesos inflamatorios, lo cual hace viable su uso en diversas terapias; como ejemplo, podemos citar el del vendaje avanzado que se desarrolló en el hospital de Bristol - Reino Unido, el mismo que, posee nanocápsulas que liberan antibióticos, según lo requerido, cuando detecta la presencia de bacterias patógenas. Este es muy útil para el tratamiento de víctimas de quemadura susceptibles al síndrome de shock tóxico [47].

Otra aplicación importante que se le ha dado a las nanopartículas de plata en el área de la medicina, es como biosensores pues se ha determinado que estos pueden detectar un gran número de proteínas que los biosensores normales no son capaces de detectar, lo cual permite descubrir diversas anomalías y enfermedades en el cuerpo humano incluyendo al cáncer [48].

1.6. TOXICIDAD DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA

En vista del creciente número de aplicaciones que se les ha dado a las nanopartículas de plata, la exposición del cuerpo humano así como también la liberación de las mismas al ambiente, se hace necesario realizar un análisis del potencial toxicológico que mencionadas nanopartículas puedan presentar.

A pesar de que el uso de las nanopartículas de plata ya se ha reportado hace varios años, la evidencia de su toxicidad aún no está clara. Por lo que varios organismos acreditados, FDA (Food and Drug Administration) y la EPA (Environmental Protection Agency), han aprobado el uso de las mismas en el área textil, cosmética, alimenticia, entre otras. Entre estos organismos se encuentra también la Comisión Europea de Nanotecnología que establece que, la toxicidad de estas nanopartículas es baja y que los productos de consumo desprenden pequeñas cantidades de plata, por tanto no ejercen consecuencias importantes para la salud. Con respecto al medio ambiente establece que, la plata a escala nano constituye un porcentaje pequeño de la cantidad de plata total presente en el medio ambiente. Sin embargo, menciona también que, ciertas especies podrían absorber fácilmente esta plata especialmente los organismos acuáticos, pero que la probabilidad de ello es mínima [42].

Por otro lado, se ha realizado una revisión sobre las formas de interacción de estas nanopartículas con tejidos humanos y las principales rutas de exposición. Los resultados encontrados reflejan que las nanopartículas de plata pueden presentar citotoxicidad por interacción con proteínas y enzimas a nivel intracelular. Sin embargo, los mismos autores sugieren la necesidad de abordar más a profundidad la investigación desde un punto de vista

médico [2], y con respecto al medio ambiente, Choi *et al.* [49], manifiestan que el empleo de nanopartículas de plata en aplicaciones cotidianas puede provocar un aumento de la concentración de las mismas en aguas residuales lo cual provocaría un efecto bactericida sobre bacterias nitrificantes produciendo por ende una disminución en su capacidad. Aunque hasta ahora no se han reportado casos de efectos adversos relacionados con el uso de las nanopartículas de plata, es importante realizar más ensayos para determinar si efectivamente las mencionadas nanopartículas son inocuas o no para el organismo así como también para el medio ambiente.

CAPÍTULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología del trabajo experimental, se llevó a cabo en cuatro diferentes etapas, las cuales se detallan en la Figura 2.1.

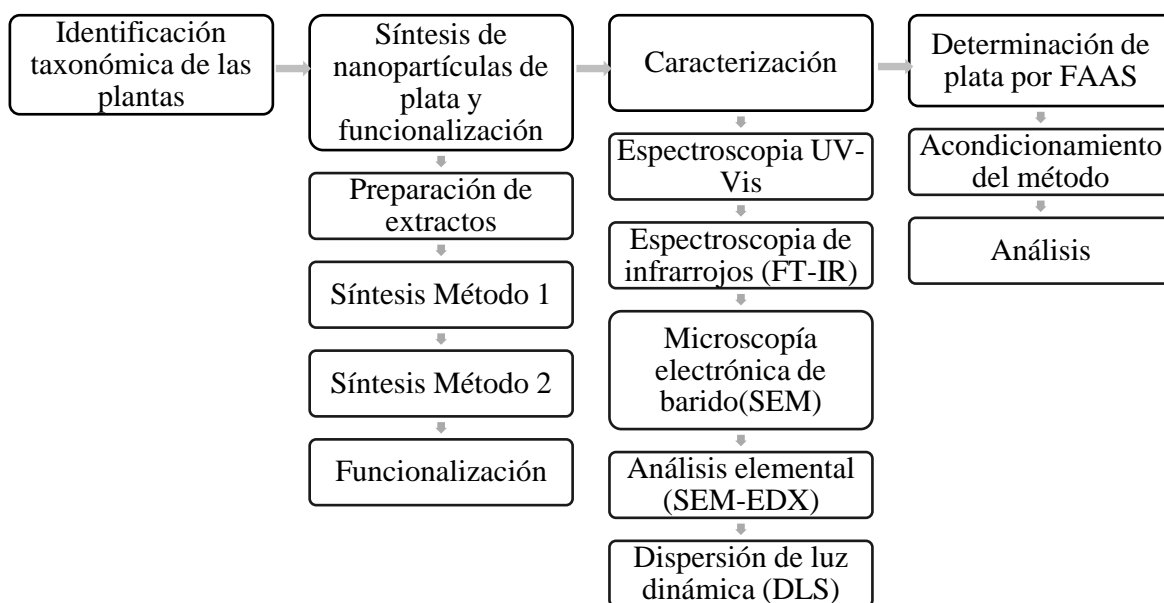


Figura 2.1. Esquema de la metodología del trabajo experimental

2.1. TOMA DE MUESTRA

Las muestras de cilantro y menta fueron adquiridas en un supermercado local de la ciudad de Quito-Ecuador. Se tomaron cinco paquetes de la planta por muestreo aleatorio simple. El

látex de sangre de drago fue proporcionado por la comunidad Kichwa de Cotococha en Puyo-Ecuador.

2.2. IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LAS PLANTAS

La identificación taxonómica de las plantas empleadas, se realizó bajo la colaboración del Herbario QCA de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (Anexo 1).

2.3. PREPARACIÓN DE EXTRACTOS

La obtención de los extractos naturales, se realizó a partir de las plantas de menta (*Origanum vulgare*) y cilantro (*Coriandrum sativum*).

2.3.1. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE MENTA

Se lavaron 10 g de hojas de menta con agua destilada para eliminar partículas de polvo o cualquier elemento contaminante. Posteriormente, se hirvieron 1,5 g de la muestra, previamente secada a temperatura ambiente, en un matraz Erlenmeyer con 100 mL de agua destilada por un tiempo de 10 minutos y agitación magnética a 300 rpm. La solución se filtró y dejó reposar a temperatura ambiente. Se realizó una dilución 1:3 con agua destilada y se almacenó en matraces previamente lavados con agua destilada [8, 50].

2.3.2. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE CILANTRO

Se lavaron 10 g de hojas de cilantro con agua destilada para eliminar partículas de polvo o cualquier elemento contaminante, se secó a temperatura ambiente y redujo el tamaño de las hojas con ayuda de un mortero. Posteriormente, se hirvieron 5 g de la muestra en un matraz Erlenmeyer con 100 ml de agua destilada por un tiempo de 5 minutos y agitación magnética a 300 rpm. Se filtró en un sistema de vacío, se dejó reposar a temperatura ambiente y se almacenó en matraces previamente lavados con agua destilada [51].

2.4. PREPARACIÓN DE LA SANGRE DE DRAGO

Para la funcionalización de las nanopartículas se empleó el látex de sangre de drago (*Croton lechleri*), el mismo que fue preparado de la siguiente manera: se mezclaron 3 g de látex, previamente secado en estufa a una temperatura de 25 °C, con 60 mL de etanol al 50 %. Se empleó una plancha de calentamiento para homogenizar la muestra, graduando la temperatura a 25 °C y 300 rpm. Una vez obtenida una solución homogénea se procedió a filtrar y se almacenó en refrigeración para su uso posterior [52].

2.5. SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS

Para la síntesis de las nanopartículas de plata se empleó como precursor una solución de nitrato de plata (AgNO_3) 10 mM y como agentes reductores amigables con el medio ambiente los extractos de plantas de menta (*Origanum vulgare*) y cilantro (*Coriandrum sativum*).

2.5.1. SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA CON EXTRACTO DE MENTA (Método 1)

En el proceso de síntesis se mezclaron 10 mL de la solución de AgNO_3 de concentración 10 mM con 0,6 mL del extracto de menta. Toda la reacción procedió a una temperatura de 45 °C y agitación a 300 rpm, donde el extracto de menta fue agregado a una velocidad de una gota por segundo. Se observó el cambio del color de la solución a anaranjado-marrón. Inmediatamente, se trasvasó la solución a frascos ámbar y se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. Se conservó en refrigeración para posteriores análisis [8, 50].

2.5.2. SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA CON EXTRACTO DE CILANTRO (Método 2)

En el proceso de síntesis se mezclaron 10 mL de la solución de AgNO_3 de concentración 10 mM con 2,2 mL del extracto de cilantro. Toda la reacción procedió a una temperatura de 60 °C y agitación a 300 rpm, donde el extracto de cilantro fue agregado a una velocidad de una gota por segundo. Se observó el cambio del color de la solución a amarillo-anaranjado. Inmediatamente, se trasvasó la solución a frascos ámbar y se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. Se conservó en refrigeración para posteriores análisis [51].

2.6. FUNCIONALIZACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA

Para la funcionalización, se tomaron 5 mL de la solución obtenida por el Método 1 y se mezclaron con 5 mL de sangre de drago preparada según el apartado 2.4. La mezcla se calentó a 25°C y se mantuvo con agitación (300 rpm). Posteriormente, se agitó en vortex para asegurar una mezcla homogénea. Se procedió de igual manera para la solución obtenida por el Método 2.

2.7. CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA

Debido a las propiedades ópticas, electrónicas y el comportamiento del plasmón superficial que presentan las nanopartículas de plata, es posible caracterizarlas por diferentes técnicas espectroscópicas y microscópicas. Las técnicas empleadas fueron:

- Espectroscopia ultravioleta visible (UV-Vis)
- Espectroscopia de infrarrojos (FT-IR)
- Microscopía de barrido electrónico (SEM)
- Dispersión de luz dinámica (DLS)

2.7.1. ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO

La espectroscopia de absorción se fundamenta en la medida de la cantidad de luz que absorbe un compuesto en función de la longitud de onda de la luz. De manera general, una muestra es irradiada con una fuente de luz y se toma la medida de la cantidad de luz transmitida a

diferentes longitudes de onda, empleando un detector y un dispositivo de registro que nos muestre la señal a manera de gráfico (espectro). Con dos o más tipos de espectros diferentes, se puede obtener información muy valiosa. Las técnicas espectroscópicas, son poderosas al emplearlas conjuntamente, pues son complementarias. Además, son técnicas que en su gran mayoría son no destructivas [53].

2.7.1.1. ESPECTROSCOPIA UV-VIS

Técnica ampliamente empleada en el área de los nanomateriales con la cual es posible determinar el rango de tamaño aproximado de nanopartícula. La aparición de un pico de absorción alrededor de los 400 nm indicará la presencia de nanopartículas de plata con un diámetro aproximado de 12 nm [54].

La absorción de radiación UV-visible provoca la excitación de los electrones de orbitales de más baja energía a orbitales de más alta energía. La máxima absorción se da a la longitud de onda característica de la estructura de la molécula [55].

La espectroscopia UV-VIS, se basa en la medida de la cantidad de radiación electromagnética que puede absorber o transmitir una muestra en función de la cantidad de sustancia presente. Cuando la luz atraviesa o se refleja en la muestra, la cantidad de luz absorbida es la diferencia entre la radiación incidente P_0 y la transmitida P . La cantidad de luz absorbida puede ser expresada como transmitancia o absorbancia [55].

Según la ley empírica de Lambert-Beer la absorbancia (A) está relacionada linealmente con la concentración de la especie absorbente (c) y con el camino óptico (b) [56], como se expresa en la ecuación 2.1.

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc \quad (2.1)$$

Donde ϵ , medida de la radiación absorbida, se la denomina absortividad molar o coeficiente de extinción molar, es un valor constante para cada sustancia a cada longitud de onda y en determinadas condiciones experimentales. Es decir, que si se opera a una longitud de onda dada y con una cubeta de determinado espesor, la absorbancia es proporcional a la concentración molar, lo que constituye el fundamento del análisis espectrofotométrico cuantitativo.

En la Figura 2.2., se observa un esquema general y las partes de un equipo de espectroscopia UV-visible.

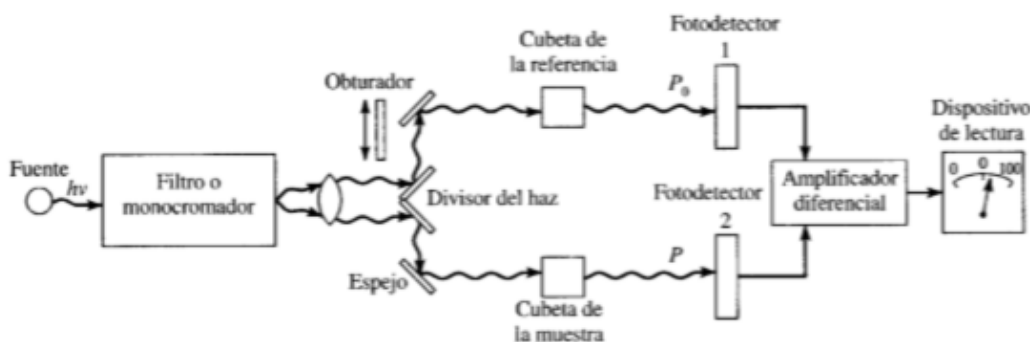


Figura 2.2. Esquema general de un equipo UV-Visible [56]

- INSTRUMENTACIÓN

Para la obtención de los espectros UV-Vis de las muestras de nanopartículas sintetizadas y funcionalizadas, se empleó el espectrómetro de doble haz Cary 60 Agilent Technologies (Figura 2.3). Las lecturas de absorbancia se realizaron a intervalos de 10 nm, desde los 500 a 300 nm, para la corrección del *background* se empleó agua destilada. Los datos fueron analizados con el software Cary WinUV.



Figura 2.3. Espectrofotómetro UV-Vis, Cary 60

- PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Una vez sintetizadas y funcionalizadas las nanopartículas, de inmediato se tomó una muestra y se colocó en celdas de plástico de 1 cm. En los casos requeridos, se realizaron diluciones con agua destilada.

2.7.1.2. ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJOS (FT-IR)

Su principal uso para la caracterización de nanopartículas se centra en la detección de especies químicas enlazadas a la superficie. La región del IR del espectro electromagnético abarca la zona comprendida entre los 12800 y los 10 cm^{-1} . Sin embargo, debido a las aplicaciones así como también a la instrumentación, se divide en tres regiones: IR cercano (NIR): 12800-4000 cm^{-1} , IR medio: 4000-400 cm^{-1} y el IR lejano: 400-10 cm^{-1} . El mayor número de aplicaciones se ha registrado para el IR medio [56].

Los fotones de luz infrarroja no poseen la suficiente energía para generar transiciones electrónicas, pero pueden provocar la vibración de grupos de átomos respecto a los enlaces que poseen [48]. Los espectros en la región infrarroja se asocian a transiciones entre niveles de energía vibracional, los cuales corresponden a vibraciones de tensión y flexión de los enlaces. Además, de otros movimientos complejos que se dan en las moléculas [57].

En una vibración de tensión se produce un cambio continuo en la distancia entre átomos a lo largo del eje de enlace mientras que las vibraciones de flexión se dan por cambios en el ángulo entre dos enlaces y son de cuatro tipos: balanceo, tijereteo, aleteo y torsión (Figura 2.4)

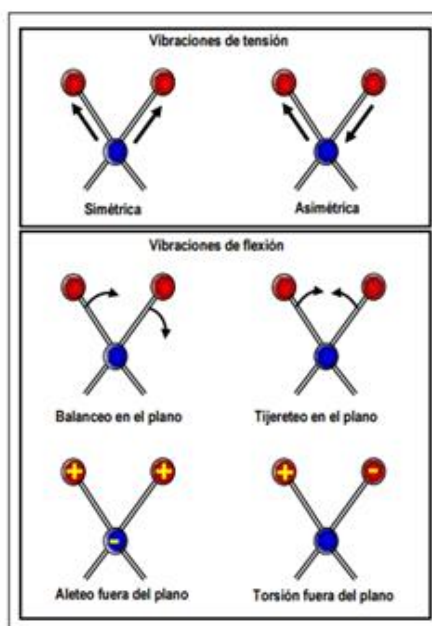


Figura 2.4. Tipos de vibraciones moleculares [57]

Para la medida de la radiación en el infrarrojo un equipo básicamente requiere de dos componentes: una fuente de radiación y un detector sensible a la radiación.

Los equipos de IR en primera instancia fueron equipos dispersivos de red y no dispersivos, los cuales generalmente tenían detectores térmicos y piroeléctricos. Posteriormente, los equipos dispersivos fueron sustituidos por espectrofotómetros de transformadas de Fourier (FT-IR) los cuales no contienen elementos de dispersión, sino un interferómetro de Michelson (Figura 2.5) con el cual se obtiene un interferograma (representa la intensidad en función de la frecuencia). La transformada de Fourier, separa las frecuencias de absorción del interferograma para generar un espectro. FTIR ofrece mayor sensibilidad y resolución en relación con los equipos dispersivos [56].

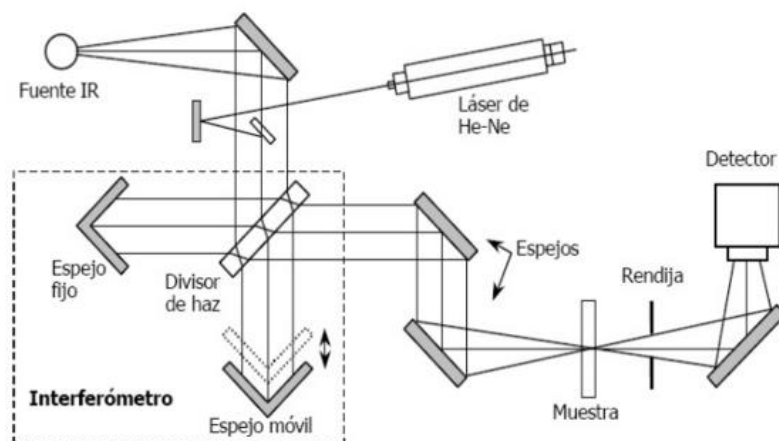


Figura 2.5. Espectrofotómetro infrarrojo con interferómetro de Michelson [58]

Los espectros IR son característicos de cada compuesto; por tanto, dos moléculas que corresponden a diferentes estructuras no tendrán nunca el mismo patrón de picos. Un espectro IR puede ser empleado como la “huella dactilar” para identificar muestras desconocidas mediante la comparación con espectros de referencia [59].

- INSTRUMENTACIÓN

Para la obtención de los espectros FT-IR de las muestras de nanopartículas sintetizadas y funcionalizadas, se empleó el espectrómetro Perkin Elmer Spectrum BX FT-IR con complemento ATR (Figura 2.6). La lectura de las muestras se las realizó bajo las siguientes condiciones: rango de 4000 a 400 cm^{-1} , 10 barridos y resolución de 4 cm^{-1} . Para cada caso, se realizó la correspondiente corrección del *background*, los datos fueron analizados con el software Spectrum v5.0.1.

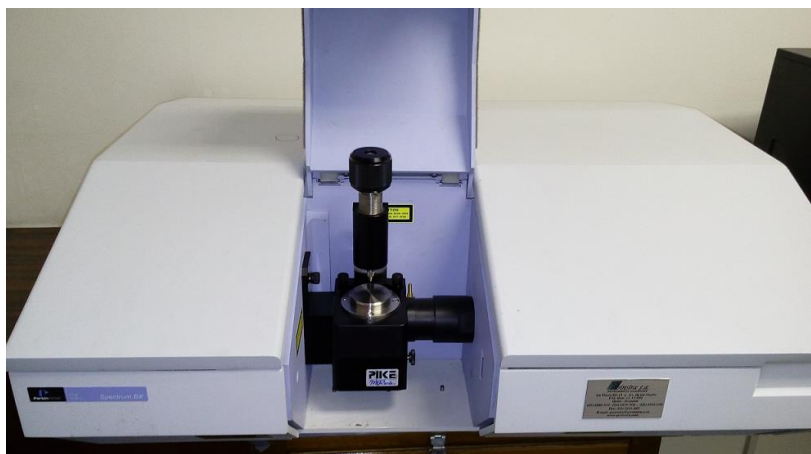


Figura 2.6. Espectrofotómetro FT-IR, Perkin Elmer Spectrum BX

- **PREPARACIÓN DE MUESTRAS**

Una vez sintetizadas y funcionalizadas las nanopartículas, se procedió a secarlas en estufa a una temperatura de 25°C, el sólido resultante en forma de polvo de cada muestra, fue colocado de manera directa en el cristal porta muestras para su correspondiente lectura.

2.7.2. ANÁLISIS MICROSCÓPICO

La microscopía electrónica, en su forma fundamental, es una técnica para el estudio de imágenes a gran aumento, las cuales son generadas por haces de electrones que atraviesan el espesor (transmisión) o barren la superficie (barrido) de un material [60].

2.7.2.1. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

Permite generar imágenes de una superficie, con una resolución alta y una apariencia tridimensional de modo que podemos definir el tamaño de las nanopartículas de plata. Además, empleando el detector de rayos X, permite realizar un análisis de la composición elemental de la muestra [60].

Su fundamento radica en que un haz de electrones provenientes de un filamento, los cuales son emitidos por un cátodo (tungsteno), pasan a través de una columna la cual se encuentra al vacío. El haz, es acelerado y concentrado al pasar a través de una serie de lentes electromagnéticas, y mediante bobinas de exploración, se desplaza por toda la superficie de la muestra de modo que va haciendo un barrido [60]. A su vez, el haz está sincronizado con un tubo de rayos catódicos; de esta manera, la información proveniente desde un punto de la muestra será reproducida en la misma posición relativa en la pantalla existiendo así una correspondencia punto a punto entre la superficie de la muestra barrida y la del tubo de rayos catódicos. Es decir, se genera una representación morfológica de la muestra [61].

Un microscopio electrónico de barrido, en su forma básica característica consta de: un sistema de vacío, un cañón de electrones con un filamento que actúa como emisor, un sistema de lentes electromagnéticos encargados de focalizar y reducir el haz de electrones a un diámetro muy pequeño, bobinas de exploración para el desplazamiento del haz por superficie de la muestra y sistemas de detección. En la Figura 2.7., se señalan las partes del (SEM) [60].

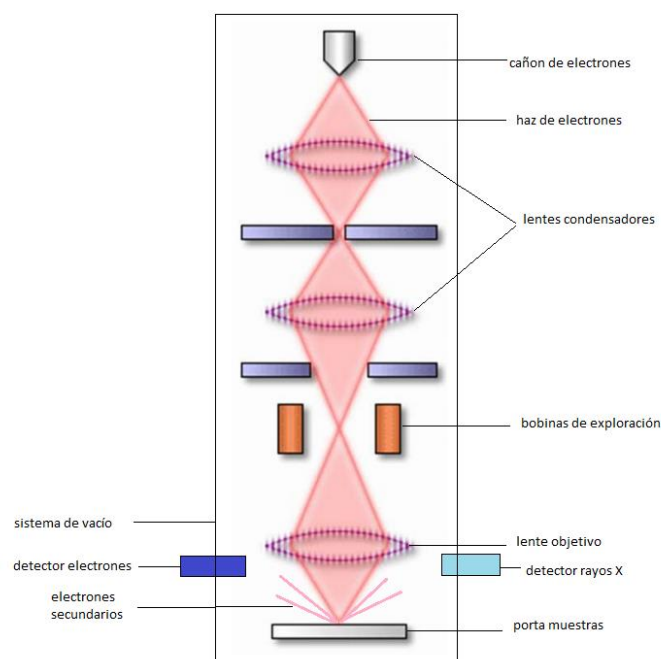


Figura 2.7. Esquema de las partes de un Microscopio Electrónico de Barrido.

Modificada de [62]

- INSTRUMENTACIÓN

Para la obtención de las imágenes SEM de las muestras de nanopartículas sintetizadas y funcionalizadas, se empleó el Microscopio de Barrido Electrónico Phenom 1255 (Figura 2.8). El análisis de datos fue realizado con el software ProSuite. Adicionalmente, se realizó un análisis elemental EDX empleando las mismas herramientas. Los análisis por SEM correspondientes a este estudio se llevaron a cabo en las instalaciones de Nano instrumentos.



Figura 2.8. Microscopio Electrónico de Barrido (SEM), Phenom 1255

- **PREPARACIÓN DE MUESTRAS**

Las muestras obtenidas de las síntesis y funcionalización de las nanopartículas de plata, fueron secadas en estufa a una temperatura de 25°C. Posteriormente, el sólido fue esparcido sobre pines metálicos con adhesivos de carbono. La uniformidad de la muestra sobre el pin se la comprobó empleando un estéreo microscopio.

2.7.3. DISPERSIÓN DE LUZ DINÁMICA (DLS)

Esta técnica fisicoquímica permite determinar la distribución de tamaños de partículas en suspensión. La dispersión de luz se refiere al fenómeno por el cual la radiación electromagnética es desviada en su dirección de propagación el momento en que choca con partículas de tipo coloidal o molecular, los haces de luz que se dispersan, interfieren entre si alcanzando así una intensidad de dispersión determinada. Cuando las partículas son pequeñas, estas se mueven rápidamente por tanto, se acelera la variación de la intensidad de dispersión. Es decir, las fluctuaciones de intensidad de luz son inversamente proporcionales

al coeficiente de difusión traslacional de las partículas pues estas se encuentran en constante movimiento Browniano [63].

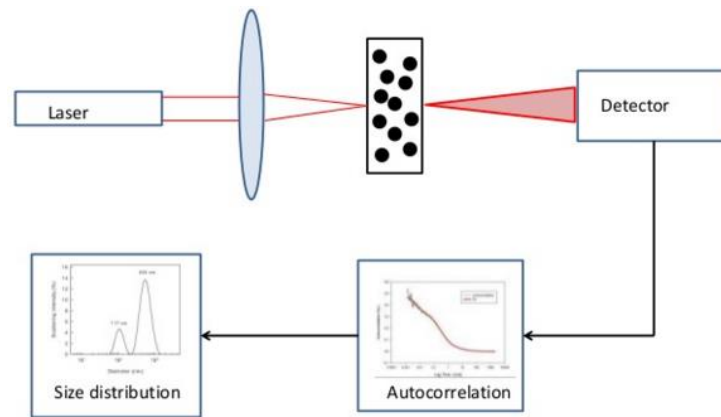


Figura 2.9. Esquema de un equipo de Dispersión de Luz Dinámica [64]

- INSTRUMENTACIÓN

Para la determinación del diámetro hidrodinámico de las muestras de nanopartículas sintetizadas y funcionalizadas, se empleó el equipo 90Plus Particle Size Analyzer (Figura 2.10). La fuente de luz es un láser que opera a una longitud de onda de 659 nm, el ángulo de medición fue de 90°. El análisis de datos fue realizado con el software ZetaPlus Particle Sizing Software Versión 4.20. Los análisis DLS correspondientes a este estudio se llevaron a cabo en la Escuela Politécnica Nacional.



Figura 2.10. Equipo de Dispersión Dinámica de Luz 90Plus

- **PREPARACIÓN DE MUESTRAS**

Una vez sintetizadas y funcionalizadas las nanopartículas, se tomó una alícuota de la muestra y se la colocó en celdas de vidrio para su posterior análisis en el correspondiente equipo.

2.7.4. DETERMINACIÓN DE PLATA POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA DE LLAMA (FAAS)

La absorción atómica se da cuando un átomo o ion gaseoso absorbe un fotón de radiación de una fuente externa haciendo que se produzca la excitación [56]. La absorción atómica de llama es una excelente técnica para la cuantificación de más de sesenta metales o metaloides, presenta gran sensibilidad y distingue satisfactoriamente un elemento de otro en muestras complejas. Cada elemento tiene un intervalo de concentración que lo caracteriza y dentro del cual se da el cumplimiento de la ley de Beer.

Según la elección del combustible y el oxidante se tendrá una determinada temperatura de la llama, la misma se encuentra regularmente entre los 1300 a 3400 °K [65].

Su principio de funcionamiento, de manera muy general, inicia cuando la muestra en forma líquida es aspirada mediante un tubo capilar, la misma llega hasta el nebulizador donde se desintegra formando una fina nube con partículas muy pequeñas suspendidas. Esta nube se mezcla con el combustible gaseoso y oxidante; para luego dirigirse hacia la llama donde se producen átomos los mismos que absorben la radiación emitida desde la fuente (lámpara). El grado de absorción depende de la concentración del elemento en la solución. Luego de haber atravesado por la llama, la señal de la lámpara llega hasta el monocromador el mismo que aísla la longitud de onda específica. Finalmente, esta señal de radiación electromagnética alcanza al transductor o detector, pasa por un amplificador de señal y finalmente llega al sistema de lectura [66].

A continuación, en la Figura 2.11., se aprecian las partes que constituyen un equipo de absorción atómica.

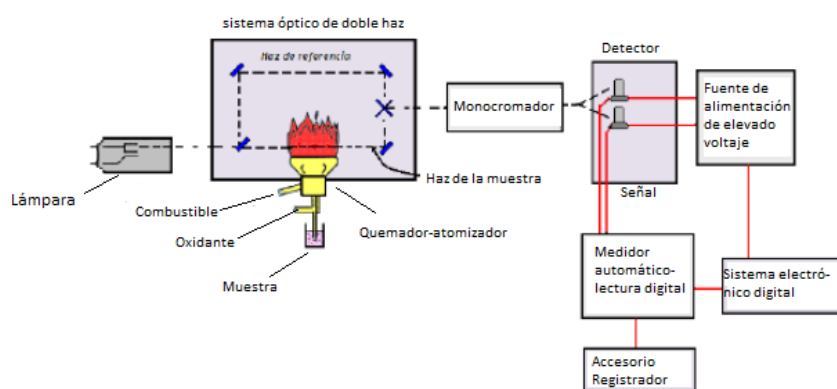


Figura 2.11. Esquema general de un equipo de Absorción Atómica de Llama [67]

- INSTRUMENTACIÓN

El contenido de plata en las muestras, se determinó empleando el espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer AAnalyst 400 (Figura 2.12). Las lecturas de las muestras se las realizó empleando una lámpara de cátodo hueco de plata y empleando aire-acetileno. Las condiciones de trabajo fueron las siguientes: longitud de onda 328,1 nm, flujo de aire 10,00 L/min y flujo de acetileno de 2,50 L/min. Los datos fueron analizados empleando el software WinLab32.



**Figura 2.12. Espectrofotómetro de Absorción Atómica de Llama,
Perkin Elmer AAnalyst 400**

- **PREPARACIÓN DE MUESTRAS Y ESTÁNDARES**

Para la preparación de las muestras y los estándares de calibración se empleó ácido nítrico al 2%. La curva de calibración se la realizó empleando seis estándares de las siguientes concentraciones: 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 y 5,0 ppm las cuales fueron preparados a partir de un estándar de referencia de $996,0 \pm 3,0$ ppm de plata (Inorganic Ventures).

Para asegurar que el método en cuestión tiene un correcto desempeño para la obtención de datos válidos, se realizó regresión lineal de la curva de calibración y se determinó la linealidad de la misma. Así como también, los límites de detección y cuantificación. Además, se analizaron los blancos reactivos, para descartar la presencia de plata en los extractos de cada planta (Anexo 2). Para determinar la recuperación del analito, se realizaron fortificaciones.

- **REGRESIÓN LINEAL Y LINEALIDAD**

Para todo método cuantitativo se necesita determinar el rango de concentración del analito donde el método es aplicable.

La linealidad es la capacidad que tiene el método para generar resultados que son directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra dentro de un rango establecido [68]. Esta, se determina evaluando la señal de respuesta para una serie de soluciones estándares del analito en concentraciones diferentes; donde el rango lineal, se

define como la relación entre la concentración en función de la respuesta, al mismo que se le denomina curva de calibrado (Figura 2.13.) y es construida bajo el modelo matemático denominado de los mínimos cuadrados [69].

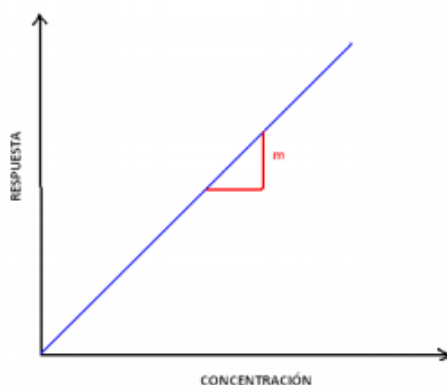


Figura 2.13. Representación gráfica de una curva de calibración [68]

Para establecer que efectivamente existe una correlación lineal entre las variables, el coeficiente de correlación (R^2) debe tener un valor igual o mayor a 0,995. Este, aporta una mayor significancia estadística por que representa como tal la variación total del modelo lineal.

Empleando las lecturas de absorbancia obtenidas para cada concentración de estándares, se realizó la regresión lineal y el cálculo del coeficiente de correlación por el método de los mínimos cuadrados.

La ecuación que representa la relación entre concentración y absorbancia es la siguiente:

$$y = ax + b \quad (2.2)$$

Donde:

y= absorbancia

x=concentración del analito

a=pendiente de la curva de regresión

b=intercepto en el eje de las ordenadas

Para obtener el valor del coeficiente de correlación se emplea la siguiente formula:

$$R^2 = \frac{\sum_i (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{[\sum_i (x_i - \bar{x})^2][\sum_i (y_i - \bar{y})^2]}} \quad (2.3)$$

- LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

Para establecer los límites de detección y cuantificación se procedió a tomar diez lecturas del blanco, en este caso ácido nítrico al 2%, empleado para el tratamiento de muestras. Adicionalmente, se realizaron lecturas de los blancos reactivos, es decir, el conjunto de reactivos empleado para la síntesis en ausencia del analito, para determinar si estos afectan a la señal de medición.

- LÍMITES DE DETECCIÓN (LOD)

Se define como la mínima concentración de analito que puede ser detectada pero no cuantificada bajo un nivel de confianza establecido [69]. Proporciona una señal instrumental significativamente diferente del blanco o señal de fondo. También se la define como la concentración de analito correspondiente a tres desviaciones estándar de las lecturas del blanco, según la ecuación:

$$LOD = 3S_b \quad (2.4)$$

- LÍMITES DE CUANTIFICACIÓN (LOQ)

Se define como la concentración mínima de analito que puede ser cuantificada con un nivel de precisión y exactitud aceptable. Proporciona una señal suficientemente grande como para distinguirse del blanco [68]. También se define como el valor de diez desviaciones estándar de las lecturas del blanco, según la ecuación:

$$LOD = 10S_b \quad (2.5)$$

- FORTIFICACIONES EMPLEANDO UN ESTÁNDAR DE REFERENCIA

Se refiere a disoluciones preparadas agregando una cantidad conocida del analito de interés, al analizar muestras fortificadas y sin fortificar se puede determinar el rendimiento de un método analítico [68], según la ecuación:

$$\% R = \frac{c_1 \times 100}{c_2} \quad (2.6)$$

Donde:

C₁=concentración determinada en la muestra fortificada (experimental)

C₂= concentración conocida (teórica)

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. PREPARACIÓN DE EXTRACTOS

En la Figura 3.1., se muestra el extracto obtenido de la planta de menta (*Origanum vulgare*), el mismo que, en primera instancia presenta una coloración amarillenta característica. Esta coloración impide realizar una determinación visual de la formación de las nanopartículas de plata, ya que el plasmón de superficie para estas suspensiones coloidales se distingue, coincidentemente, como un color amarillento brillante. Por tanto, previo a la síntesis, se realizó una dilución de una parte del extracto en tres partes de agua (Figura 3.2), con la finalidad de apreciar un cambio que efectivamente indique la formación de las nanopartículas.



Figura 3.1. Extracto de la planta de menta (*Origanum vulgare*)



Figura 3.2. Dilución 1:3 del extracto de la planta de menta (*Origanum vulgare*)

El extracto de la planta de cilantro, presenta una coloración verdosa (Figura 3.3). Por lo tanto, no presentó impedimento alguno a la hora de determinar la formación de las nanopartículas de plata.



Figura 3.3. Extracto de la planta de cilantro (*Coriandrum sativum*)

3.2. SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA

3.2.1. MÉTODO 1: REDUCCIÓN CON EXTRACTO DE MENTA

Durante el transcurso de la reacción, se observó un cambio de coloración de la solución, desde transparente hasta un anaranjado-marrón (Figura 3.4), siendo efectiva la formación de las nanopartículas de plata, según lo reportado en varios estudios [7, 8, 12, 15].



Figura 3.4. Nanopartículas de plata sintetizadas mediante el Método 1

La coloración anaranjada-marrón característica perduró, sin cambio aparente alguno, por un tiempo aproximado de 30 días, en refrigeración a 4 °C. Luego de lo cual, la coloración se intensificó, señal evidente de la agregación de las nanopartículas según el fenómeno denominado absorción del plasmón [70].

Es importante tomar en cuenta que, los parámetros bajo los cuales se desarrolló la síntesis, influyen en gran medida en el tamaño y polidispersión, así como también en la agregación

de las partículas. En este caso en particular, los parámetros más relevantes fueron la concentración del extracto puesto que, concentraciones muy elevadas pueden provocar el aumento de la fuerza iónica, lo cual desencadena mayor agregación por parte de las nanopartículas; la velocidad y tiempo de agitación influyen, ya que una agitación muy fuerte y prolongada también puede generar la agregación de las nanopartículas. Por último, la temperatura debe estar relacionada de manera inversa según la fuerza reductora del extracto; es decir, mientras más débil es el reductor se requiere de mayor temperatura para que las nanopartículas permanezcan en solución y no se depositen en la superficie [71].

3.2.2. MÉTODO 2: REDUCCIÓN CON EXTRACTO DE CILANTRO

Durante el transcurso de la reacción se observó un cambio de la coloración de la solución, desde transparente hasta un amarillo-anaranjado. Esta coloración nos indicaría que, las nanopartículas de plata formadas son de tamaño menor o no sufren agregación [70], en comparación con las obtenidas por el Método 1.

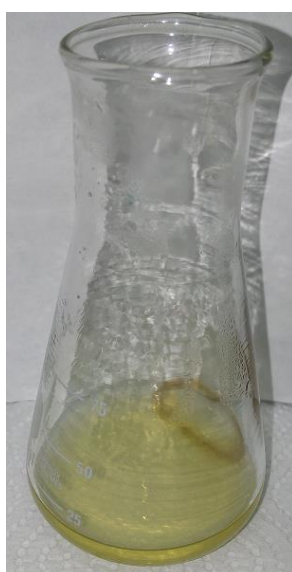


Figura 3.5. Nanopartículas de plata sintetizadas mediante el Método 2

La coloración amarilla-anaranjada característica perduró, sin cambio aparente alguno, por un tiempo más prolongado en comparación con la síntesis realizada según el Método 1, superando los 90 días. Posteriormente, se evidenció un cambio de coloración hasta llegar a marrón, señal evidente de la agregación de las nanopartículas.

Los parámetros más relevantes que se han tomado en cuenta, en la síntesis de AgNPs con los extractos de menta y cilantro, para controlar el tamaño y polidispersión en la obtención de nanopartículas de plata, fueron: la concentración de extracto de la planta (0,6 mL para el Método 1 y 2,2 mL para el Método 2), temperatura (45 °C y 60 °C para los métodos 1 y 2 respectivamente), velocidad (300 rpm en ambos métodos) y tiempo de agitación (mientras se agrega el reductor). En el Método 1 y el Método 2 la agitación fue moderada, y ésta no se prolongó más de lo necesario, únicamente se mantuvo durante el transcurso de la reacción. Sin embargo, el Método 2 requirió de una mayor cantidad de extracto, así como también de una mayor temperatura para que la reacción proceda; es decir, que el extracto de cilantro actúa como un agente reductor más débil en comparación con el extracto de menta.

3.3. FUNCIONALIZACIÓN

Durante la funcionalización de las nanopartículas de plata, no fue viable determinar visualmente algún posible cambio sobre las nanopartículas de plata, debido a la coloración roja intensa característica de la sangre de drago (Figura 3.6).



Figura 3.6. Nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de cilantro funcionalizadas con sangre de drago.

3.4. CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA

3.4.1. ESPECTROSCOPIA UV-VISIBLE

Para identificar las AgNPs, se empleó la técnica de espectroscopia UV-Vis, en donde la presencia de un pico aproximadamente a los 400 nm ratifica la formación de las nanopartículas. Se ha reportado que a medida que el tamaño de nanopartículas metálicas aumenta, el pico de absorción tiende a ubicarse a longitudes de onda mayores por lo que, mediante la posición y la forma del pico es posible predecir el tamaño y polidispersidad de las partículas. En la Tabla 3.1., se muestran valores aproximados de longitudes de onda reportados por Pradeep, T. [71] que permiten predecir el tamaño de nanopartículas de plata.

Tabla 3.1. Tamaño de las nanopartículas de plata según la posición de los picos de absorción en el espectro UV-Vis [71]

Tamaño de partícula (nm)	Posición del pico (nm)
10-14	~ 400
35-50	430
60-80	438

A partir de estos valores se realizó una relación, de los espectros UV-Vis obtenidos, en las síntesis realizadas por el Método 1 y 2. En la Figura 3.7., se presentan los espectros UV-Vis obtenidos a partir del Método 1.

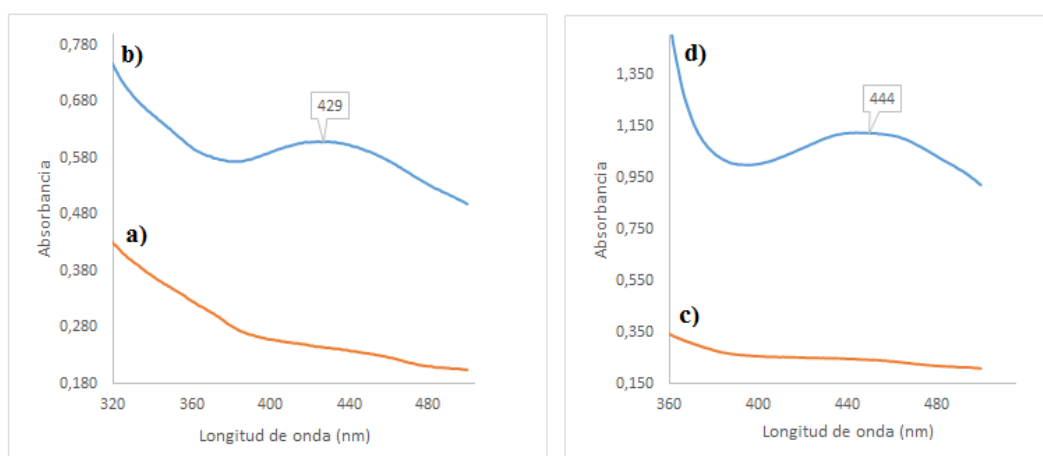


Figura 3.7. Espectros UV-Vis: a) Extracto de menta, b) nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de menta, c) sangre de drago y d) nanopartículas de plata funcionalizadas con sangre de drago

En las Figuras 3.7a y 3.7c se observan los espectros UV-Vis del extracto de menta y la sangre de drago respectivamente, los cuales carecen de picos característicos en el rango comprendido entre los 400 y 450 nm; por tanto, no presentan ninguna interferencia para el

análisis de las nanopartículas de plata formadas. En la Figura 3.7b, se puede apreciar un pico de absorción máximo a una longitud de onda de 429 nm. Resultado similar se presentan en el trabajo realizado por Sankar *et. al* [50] con una solución de AgNO_3 1mM como precursor. Este valor de longitud de onda, según Pradeep, T., nos indica que el tamaño de nanopartículas obtenido, está comprendido en un valor entre 35 - 50 nm aproximadamente. Asimismo, haciendo referencia a una curva de distribución Gaussiana, se puede observar que ésta, tiene una forma de distribución mesocúrtica; por tanto, se puede deducir una polidispersidad media. En la Figura 3.7d se pueden citar las mismas consideraciones con respecto a la forma de la curva. Sin embargo, se aprecia que el pico de absorción se ha desplazado hacia una longitud de onda mayor, 444 nm, lo cual indica que el tamaño de las nanopartículas de plata ha aumentado, superando los 80 nm, evidentemente debido al recubrimiento generado por la sangre de drago.

En la Figura 3.8., se presentan los espectros UV-Vis obtenidos a partir del Método 2.

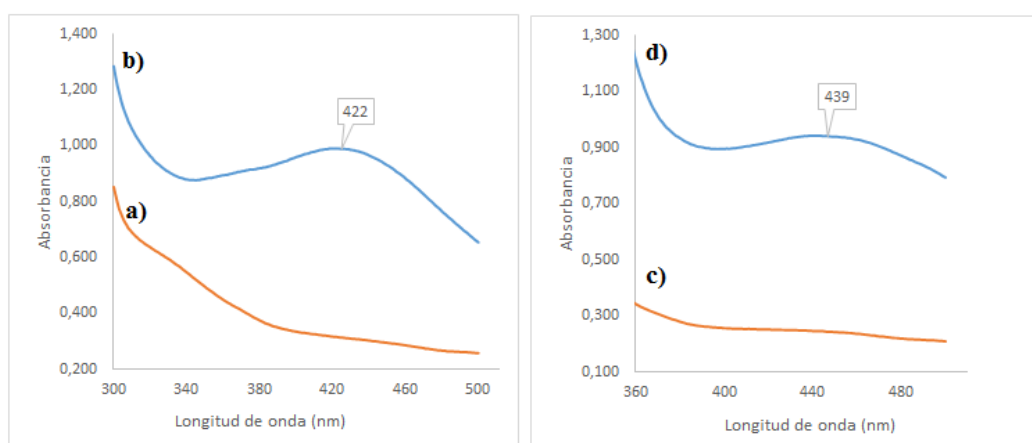


Figura 3.8. Espectro UV-Vis: a) Extracto de cilantro, b) nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de cilantro, c) sangre de drago y d) nanopartículas de plata funcionalizadas con sangre de drago

En las Figuras 3.8a y 3.8c se observan los espectros UV-Vis del extracto de cilantro y la sangre de drago respectivamente los cuales, carecen de picos propios característicos en el rango comprendido entre los 400 y 450 nm; por tanto, no presentan ninguna interferencia para el análisis de las nanopartículas de plata formadas. En la Figura 3.8b el pico de absorción máximo se aprecia a una longitud de onda de 422 nm. Resultados similares se presentan en los trabajos realizados por Sathyavathi *et al.* [51] y Camacho & Deschamps [72]. Por tanto, al igual que para el Método 1, se puede sugerir la presencia de nanopartículas de plata, con tamaños de partículas similares, es decir, de aproximadamente entre 35 - 50 nm [71]. Con respecto a la forma de la curva, se aprecia una forma similar a la presentada por el Método 1; no obstante, es ligeramente más ancha, lo que puede indicar que la polidispersidad es sutilmente mayor. En la Figura 3.8d el pico de absorción se lo identifica a 439 nm, por tanto, el tamaño de partícula es de aproximadamente 60 - 80 nm.

Según Pradeep, T. [71], a menor longitud de onda del pico de absorción máximo, menor será el tamaño de las nanopartículas. Por tanto, podemos inferir que los tamaños de NPs logrados por el Método 1 son de mayor tamaño en comparación con las NPs obtenidas por el Método 2, debido al desplazamiento del pico de absorción máxima, a longitudes de onda mayor.

3.4.2. ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJOS POR TRANSFORMADAS DE FOURIER (FT-IR)

Con la finalidad de identificar las especies químicas localizadas en la superficie, se realizó un análisis espectroscópico FT-IR para cada síntesis y funcionalización de las nanopartículas

de plata según los Métodos 1 y 2. A continuación, en la Figura 3.9., de manera previa a la presentación de los espectros obtenidos durante esta investigación, se exponen espectros FT-IR del nitrato de plata (a) y de nanopartículas de plata (b) obtenidos de Aguilar, M. [3], con el propósito de apreciar el cambio en las bandas características que confirmen la efectividad de la síntesis.

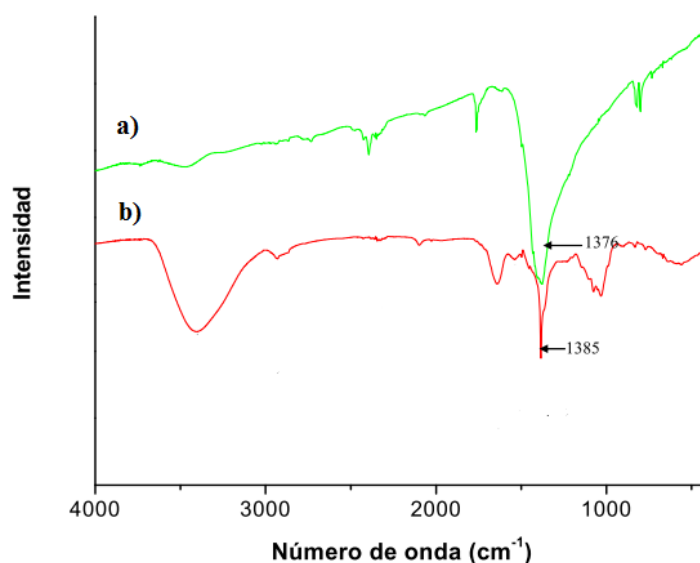


Figura 3.9. Espectros FT-IR: a) nitrato de plata, b) nanopartículas de plata [3]

En la Figura 3.9a se aprecia un pico de gran intensidad a los 1376 cm^{-1} mismo que corresponde al par iónico $\text{Ag}^+ \text{NO}_3^-$, mientras que, en el apartado b, se observa una disminución de la intensidad del pico y un desplazamiento hacia valores de número de onda mayores a 1385 cm^{-1} . Dicho número de onda es característico del ion NO_3^- en forma libre. Una vez identificado este pico característico, se procede a analizar los correspondientes espectros FT-IR obtenidos para cada síntesis. En la Figura 3.10., se muestran los espectros FT-IR relacionados con la síntesis según el Método 1.

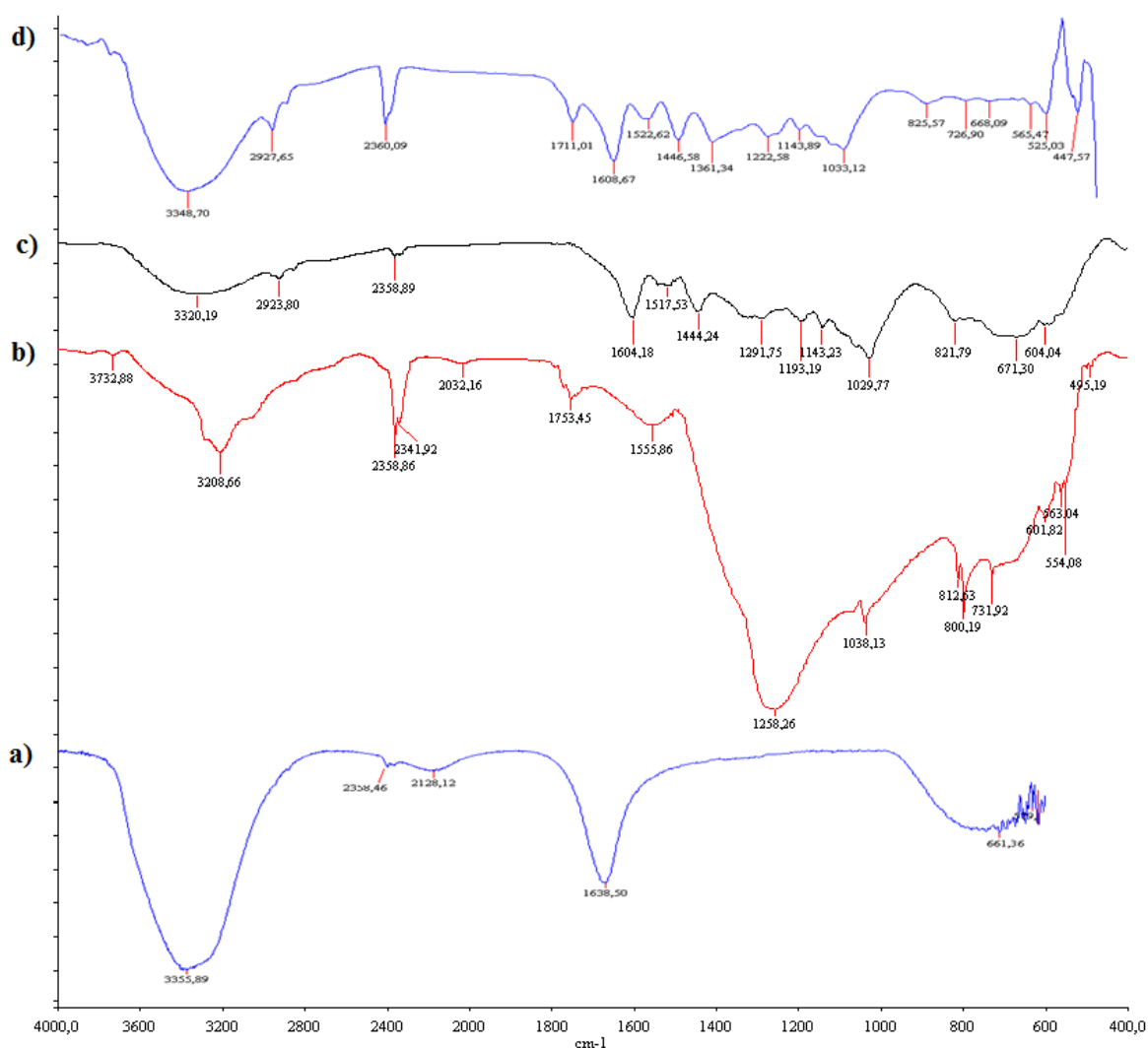


Figura 3.10. Espectros FT-IR: a) Extracto de menta, b) nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de menta, c) nanopartículas de plata funcionalizadas con sangre de drago y d) sangre de drago

En la Figura 3.10a, se aprecian varias bandas de muy baja intensidad y únicamente dos banda características de gran intensidad las mismas que, corresponden a los principales grupos funcionales del extracto de menta. Según el trabajo reportado por Sankar *et. Al* [50], en el cual fue empleado el mismo extracto, las bandas coinciden solo parcialmente; sin embargo, la interpretación de ambos espectros sugiere grupos funcionales iguales. A los 3355,89 cm⁻¹

¹ se aprecia una banda ancha y de gran intensidad la cual corresponde al estiramiento de los grupos –OH, la banda que se ubica a los 2358,46 cm⁻¹ pertenece al enlace C=N y, la banda a los 1638,50 cm⁻¹ posiblemente pertenece al enlace de tensión entre N-H, cuyo ancho de banda se origina por el estiramiento del grupo carbonilo. Los grupos hidroxilo y carbonilo presentes son capaces de actuar como reductores [73]. En el espectro 3.10b se puede observar a los 3208,66 cm⁻¹ una banda ancha y deformada por posibles solapamientos entre picos, esta corresponde al grupo funcional –OH, mencionada banda, comparada con la Figura 3.10a, sufre un desplazamiento hacia valores de número de onda menores y su intensidad es mucho menor. La banda ubicada a los 1638,50 cm⁻¹ de la Figura 3.10a, no aparece en este espectro pero, se aprecia un pico en 3732,88 cm⁻¹ de baja intensidad, el cual representa al enlace N-H para aminas secundarias. La zona que va desde aproximadamente los 1500 cm⁻¹ hasta los 400 cm⁻¹ tiene un cambio considerable en donde se aprecian varios picos, el más sugestivo se encuentra a los 1258,26 cm⁻¹, el mismo que se presenta con gran intensidad y anchura. Este pico se puede atribuir al enlace C-O de ácidos carboxílicos. De existir residuos de NO₃⁻ provenientes de precursor, se apreciaría una banda a los 1380 cm⁻¹. Sin embargo, el ancho de la banda a los 1258,26 cm⁻¹ impide realizar una verificación de lo mencionado particular a pesar de que la deformación de esta banda sugiere el solapamiento de varios picos en esta zona.

La Figura 3.11. muestra los espectros FT-IR relacionados con la síntesis según el Método 2.

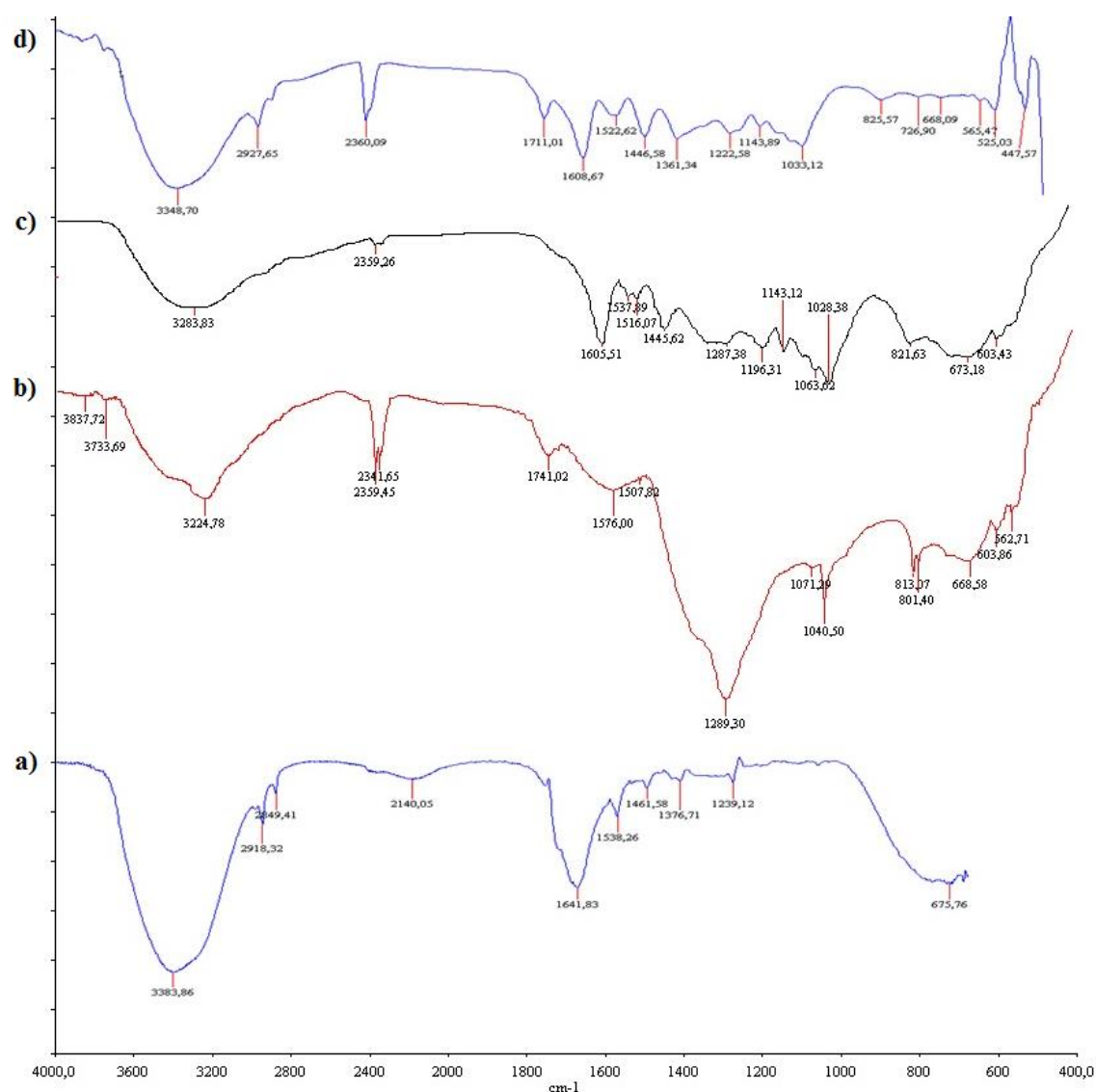


Figura 3.11. Espectros FT-IR: a) Extracto de cilantro, b) nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de cilantro, c) nanopartículas de plata funcionalizadas con sangre de drago y d) sangre de drago

En la Figura 3.11a, se puede apreciar las bandas o picos característicos, los cuales corresponden y son representativos de los principales grupos funcionales del extracto de cilantro. En su mayoría los picos coinciden con los espectros experimentales citados en la literatura [51,72]. En torno a los $3383,86 \text{ cm}^{-1}$ se observa una banda ancha y de gran intensidad la cual corresponde a la tensión de los grupos -OH , dos bandas pequeñas a los

2918,32 y 2849,41 cm^{-1} representan tensiones del enlace C-H. Aproximadamente a los 1641,83 cm^{-1} se tiene una banda de mediana intensidad, la cual pertenece al enlace de tensión entre N-H correspondiente a amidas primarias, cuya deformación y ancho de banda se genera debido al estiramiento del grupo carbonilo en proteínas. Para los 1239,12 cm^{-1} se observa un pico de baja intensidad, el cual puede ser representativo del enlace C-O de ácidos carboxílicos. Además, en la zona comprendida entre los 1200 a 1600 cm^{-1} se aprecian varios picos de baja intensidad, los cuales se pueden atribuir a enlaces de tipo C=O, C=N, C-O, etc., asociados a compuestos heterocíclicos como flavonas, isoflavonas, flavonoides y curamidas. Estos resultados, dan una aproximación de los principales grupos funcionales presentes en el extracto de cilantro, los grupos hidroxilo y carbonilo presentes son los posibles responsables de la reducción [73].

Al comparar el espectro de la Figura 3.11b con el espectro de la Figura 3.11a se aprecia que la banda correspondiente al -OH, se ha desplazado hacia valores de número de onda menores y que su intensidad ha disminuido considerablemente. Esto se puede asociar a la interacción entre los grupos -OH del agente reductor y la sal precursora (AgNO_3). La banda ubicada en los 1641,83 cm^{-1} correspondiente al enlace N-H desaparece por completo. Sin embargo, la aparición de un doblete de picos de baja intensidad en 3837,72 y 3733,69 cm^{-1} indica la presencia de aminas primarias. Además, el pico ubicado a los 1040,50 cm^{-1} se relaciona con el enlace C-N de una amina. El cambio más significativo se aprecia en la banda de los 1239,12 cm^{-1} , atribuida a enlaces C-O de ácido carboxílicos, la cual se ve desplazada hacia valores de número de onda mayores y tiene un aumento significativo en cuanto a su intensidad y ancho; esta banda, abarca la zona aproximada entre los 1400 y 1200 cm^{-1} , el ancho de banda, así como también su forma, sugiere solapamiento de varios picos. Este particular, impide comprobar la presencia de una banda de mediana intensidad en

aproximadamente 1380 cm^{-1} , la misma que indicaría la presencia de residuos de NO_3^- , si es que los hubiera, provenientes del precursor (AgNO_3). Se sugiere que grupos carbonilo de residuos de aminoácidos y proteínas tienen una alta afinidad para unirse al metal; por tanto, las proteínas son capaces de formar una capa para recubrir las nanopartículas proporcionando estabilidad, impidiendo así aglomeraciones. También, que el extracto de cilantro en este caso, cumple una doble función de reducción y estabilización de las nanopartículas de plata [51].

Se evidencia que los espectros FT-IR de las Figuras 3.10c y 3.10d así como también, los espectros FT-IR de las Figuras 3.11c y 3.11d, los cuales corresponden a las nanopartículas de plata funcionalizadas y a la sangre de drago respectivamente, presentan gran similitud entre ellos, lo que sugiere que la funcionalización se ha dado satisfactoriamente para ambos métodos.

Entre las bandas que más destacan se tiene la correspondiente a la tensión de los grupos OH a los $3348,70\text{ cm}^{-1}$ y del grupo carbonilo C=O a los $1608,67\text{ cm}^{-1}$, para las cuales (en d) se aprecia un ligero desplazamiento hacia número de onda mayores y un aumento y disminución del pico en cuanto a su intensidad, en el mismo orden mencionado. Además, se aprecia un pico a los $1222,58\text{ cm}^{-1}$, correspondiente al enlace C-O de ácidos carboxílicos y a los $1033,12\text{ cm}^{-1}$ el pico correspondiente al enlace C-N de amina. De manera general, se puede mencionar que la zona que va desde los 1600 cm^{-1} hasta los 400 cm^{-1} se presenta con intensidad menor con respecto a c) en donde se aprecia también posibles solapamientos entre picos. Esto se presume sucede por la interacción entre las nanopartículas de plata formadas y los diferentes grupos funcionales presentes en la sangre de drago.

3.4.3. MICROSCOPIA ELCTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

En la Figura 3.12., se muestran las imágenes obtenidas por SEM de las nanopartículas de plata sintetizadas mediante el Método 1.

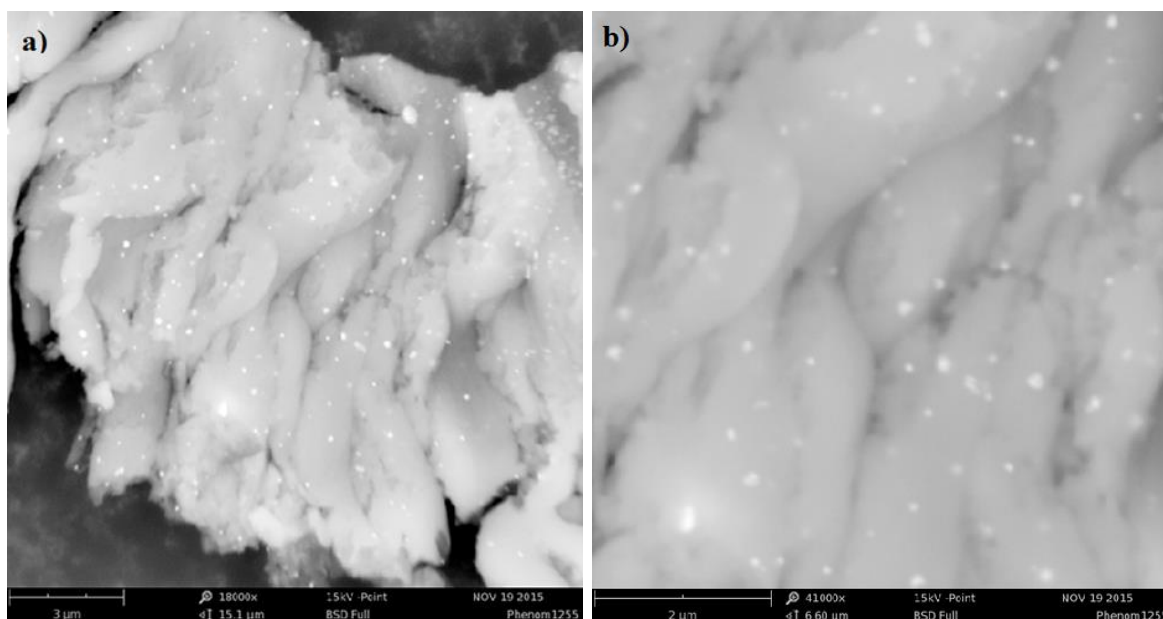


Figura 3.12. Imágenes SEM nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 1

a) 18000X b) 41000 X

En las imágenes, se aprecia que las nanopartículas presentan forma esférica, con una polidispersidad moderada con tendencia a la agregación. El tamaño promedio de las nanopartículas es de 92 nm. En el trabajo realizado por Sankar *et. Al* [50], en donde emplean el mismo extracto acuoso como reductor, el tamaño promedio de nanopartículas es menor (74 nm), esto se debe a las diferentes condiciones de extracción, síntesis y concentración del reductor. Su morfología y dispersión son prácticamente iguales.

Sin lugar a dudas, en la mayoría de los casos, se busca obtener el menor tamaño de partícula ya que esto supone una mayor cantidad de aplicaciones. El tamaño de partícula menor supondría que la metodología empleada es mejor. Sin embargo, esto se define en base a las aplicaciones a las cuales serán destinadas las nanopartículas de plata.

Para las nanopartículas funcionalizadas, con un aumento de 28500 x, se observó agregación de las nanopartículas; por lo que, no fue posible definir el tamaño de las mismas mediante esta técnica. La estabilidad de estos sistemas depende del balance entre las fuerzas atractivas de Van der Waals y las fuerzas repulsivas electrostáticas entre las nanopartículas cargadas eléctricamente, según lo descrito por la teoría DLVO (por los autores Derjaguin, Landau, Verwey y Overbeek). El balance entre estas fuerzas, implica una barrera de potencial [74].

En este caso, al añadir la sangre de drago como funcionalizante, se forma una capa adicional alrededor de las NPs, la misma que pudo generar una desestabilización de la barrera de potencial desencadenando así, la aproximación de las nanopartículas unas con otras y por tanto, la agregación entre ellas.

En la Figura 3.13., se muestran las imágenes obtenidas por SEM de las nanopartículas de plata sintetizadas mediante el Método 2.

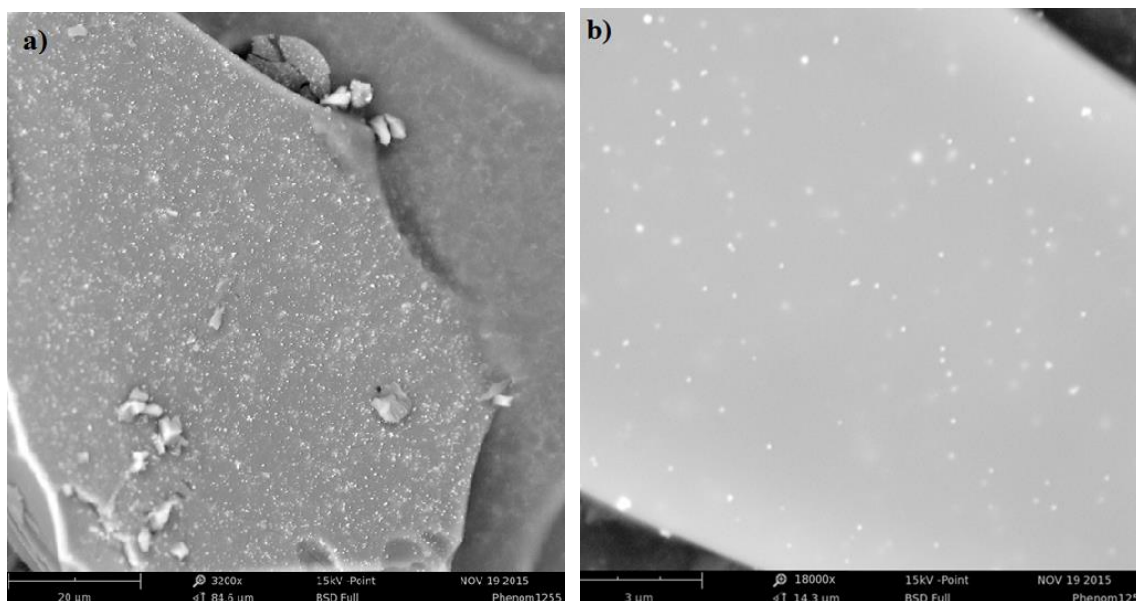


Figura 3.13. Imágenes SEM nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2

a) 3200 X b) 18000 X

Al igual que en las imágenes SEM de las nanopartículas de plata sintetizadas mediante el Método 1, se puede apreciar que las nanopartículas poseen forma esférica y moderada polidispersidad. No se evidencia tendencia a formar agregados. El tamaño promedio de las nanopartículas es de 50 nm, valor que se encuentra dentro del rango de (35-50 nm), estimado por espectroscopia UV-Vis.

La Figura 3.14., muestra las correspondientes imágenes SEM de las nanopartículas de plata sintetizadas mediante el Método 2 y funcionalizadas con sangre de drago.

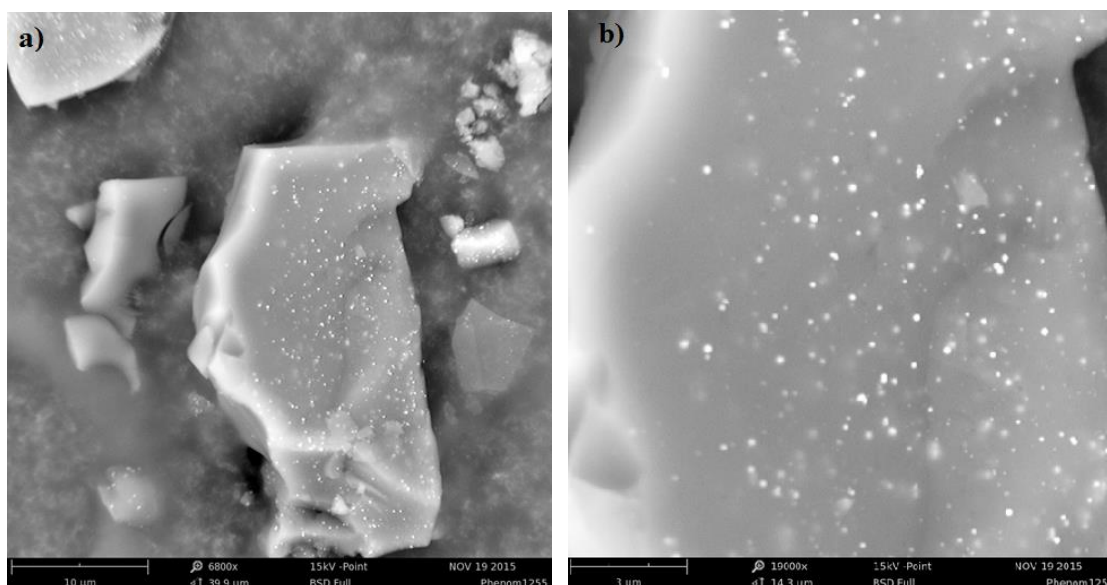


Figura 3.14. Imágenes SEM nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2 y funcionalizadas con sangre de drago a) 6800 X b) 19000 X

En este caso, se puede notar que las nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2 y funcionalizadas con sangre de drago, conservan su forma esférica pero con un tamaño de partícula mayor y como consecuencia de ello, un aumento en la polidispersidad. A pesar de esto, no se evidencia la tendencia hacia la formación de agregados. El tamaño promedio de las nanopartículas es de 72 nm, valor que se encuentra dentro del rango de (60-80 nm), estimado por espectroscopia UV-Vis.

A continuación, en la Tabla 3.2., se presenta una comparación entre los tamaños de partículas obtenidos mediante espectroscopia UV-Vis y SEM. En la misma tabla, se puede apreciar una concordancia satisfactoria para la síntesis según el Método 2 y su correspondiente funcionalización. Sin embargo, para el Método 1 se aprecia un amplio rango de variabilidad

de los tamaños de partículas hallados según cada método, lo cual se debe a la tendencia de formar agregados.

Tabla 3.2. Comparación de los tamaños de nanopartículas de plata obtenidos mediante espectroscopia UV-Vis y SEM

Método	Reductor	Tamaño de partícula (nm)	
		UV-Vis	SEM
1	Extracto de menta	35-50	92
2	Extracto de cilantro	35-50	50
Funcionalización	Extracto de menta	>80	N/D
Funcionalización	Extracto de cilantro	60-80	72

3.4.4. ANÁLISIS ELEMENTAL (SEM-EDX)

Aprovechando las características del microscopio electrónico de barrido, el cual puede incorporar varios detectores, en este caso el detector de energía dispersiva (EDS/EDX, por sus siglas en inglés), se llevó a cabo el análisis elemental de las nanopartículas obtenidas con los diferentes métodos de síntesis. En la Figura 3.15., se presenta el espectro EDX de nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 1.

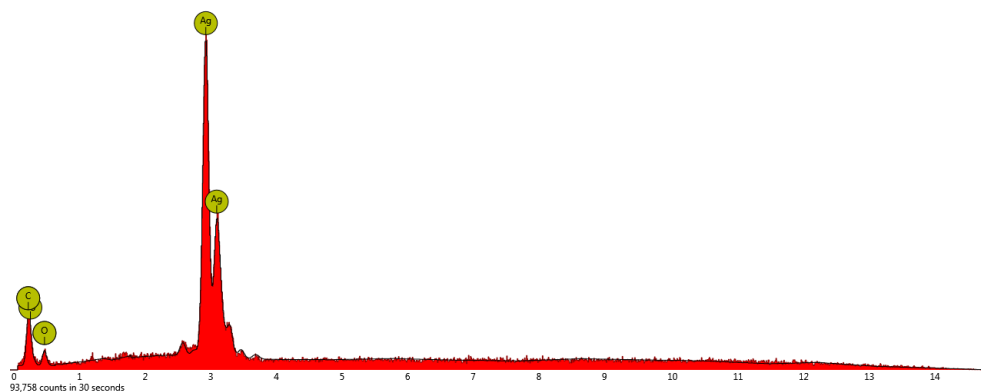


Figura 3.15. Espectro EDX de nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 1

En este espectro (Figura 3.15), se puede apreciar una señal de los átomos de plata, lo cual confirma su presencia en las nanopartículas sintetizadas. El porcentaje promedio encontrado fue del 38,8 % como se reporta en la Tabla 3.3. Además, se encuentra un valor elevado en el porcentaje de carbono, debido a la capa adhesiva constituida del mismo material, sobre la cual se coloca la muestra y al extracto de naturaleza orgánica empelado como reductor. El porcentaje elevado de oxígeno también se le atribuye a la naturaleza orgánica del extracto.

Tabla 3.3. Análisis elemental de la síntesis de la nanopartículas de plata efectuado por el Método 1

Número	Símbolo	Elemento	Porcentaje (%)	Error (%)
47	Ag	Plata	38,8	0,0
6	C	Carbono	34,2	0,5
8	O	Oxígeno	27,0	0,3

A continuación, en la Figura 3.16., se presenta el espectro EDX de las nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2.

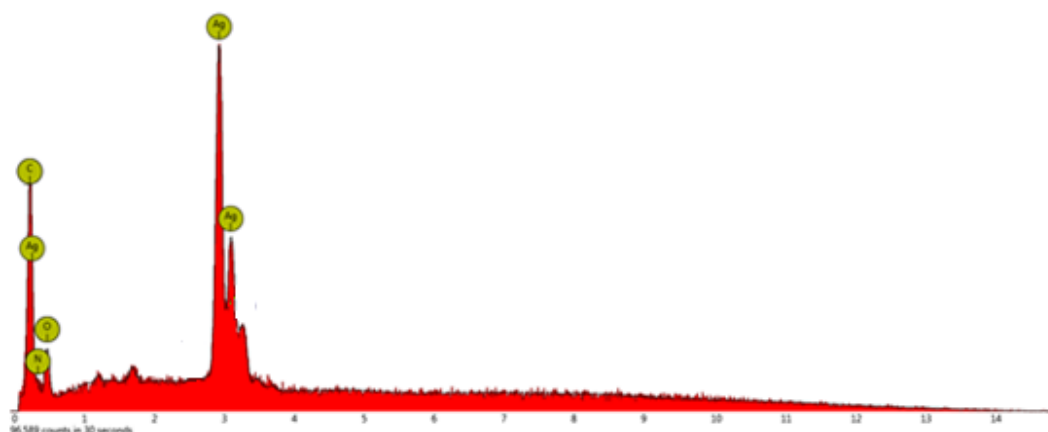


Figura 3.16. Espectro EDX de nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2

En el espectro (Figura 3.16), se aprecian porcentajes de carbono y oxígeno en mayor proporción que el porcentaje de plata cuyo valor encontrado corresponde al 15,4 % como se observa en la Tabla 3.4. Además, se reporta la presencia de nitrógeno, lo cual se debe a la naturaleza orgánica del reductor, como ya se mencionó previamente al igual que para el Método 1, y a posibles residuos de NO_3^- provenientes del precursor. Sin embargo, este valor es discutible puesto que el porcentaje de error supera al 1 %.

Tabla 3.4. Análisis elemental de la síntesis de la nanopartículas de plata efectuado por el Método 2

Número	Símbolo	Elemento	Porcentaje (%)	Error (%)
6	C	Carbono	49,5	0,6
8	O	Oxígeno	25,1	0,1
47	Ag	Plata	15,4	0,1
7	N	Nitrógeno	10,0	1,4

Finalmente, en la Figura 3.17., se presenta el espectro EDX de las nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2 y funcionalizadas con sangre de drago.

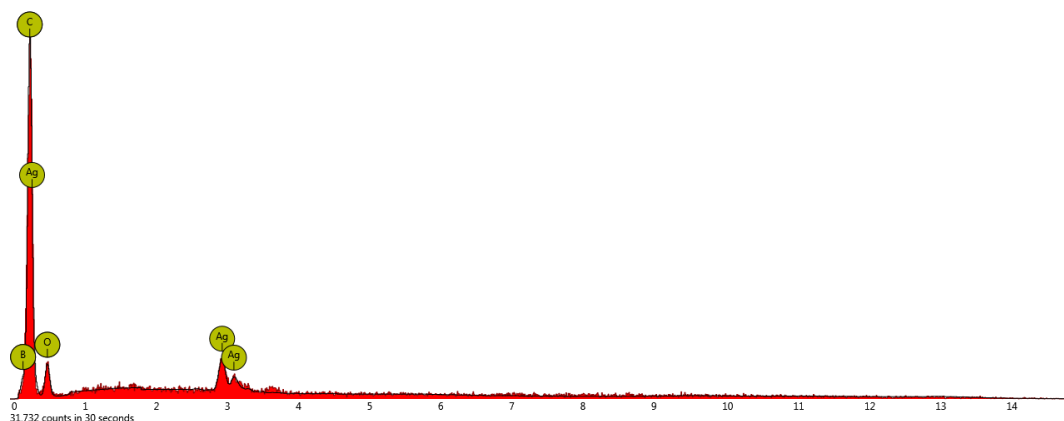


Figura 3.17. Espectro EDX de nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2 y funcionalizadas con sangre de drago

En este espectro (Figura 3.17), se pueden encontrar diferencias significativas al compararlo con el espectro EDX de nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2. El porcentaje de carbono aumenta considerablemente al 80,1 % mientras que el porcentaje de plata disminuye significativamente hasta un 0,6 %, como se muestra en la Tabla 3.5., lo cual se debe al recubrimiento que tiene lugar con la sangre de drago sobre las nanopartículas de plata. Es decir, la plata albergada en el interior de esta, se vuelve prácticamente imperceptible ya que el análisis elemental que permite realizar el equipo, es únicamente superficial. Además, que presenta como peculiaridad, la presencia de boro. Este elemento puede estar presente por uso del material de vidrio constituido por borosilicato. Sin embargo, estas cantidades deberían ser mínimas. Por tanto, se atribuye una contaminación de la muestra al colocarla en el “pin” respectivo sobre el cual va el adhesivo de carbono.

Tabla 3.5. Análisis elemental de la síntesis de la nanopartículas de plata efectuado por el Método 2 y funcionalizado con sangre de drago

Número	Símbolo	Elemento	Porcentaje	Error (%)
6	C	Carbono	80,1	0,4
5	B	Boro	11,4	0,3
8	O	Oxígeno	8,0	0,1
47	Ag	Plata	0,6	0,5

3.4.5. DISPERSIÓN DE LUZ DINÁMICA (DLS)

A través de la técnica DLS se definieron los diámetros hidrodinámicos; es decir, el diámetro de la nanopartícula más la capa eléctrica adherida a su superficie [75]. En la Figura 3.18., se presentan los correspondientes histogramas de distribución del diámetro hidrodinámico para las nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 1, así como también, el de su correspondiente funcionalización.

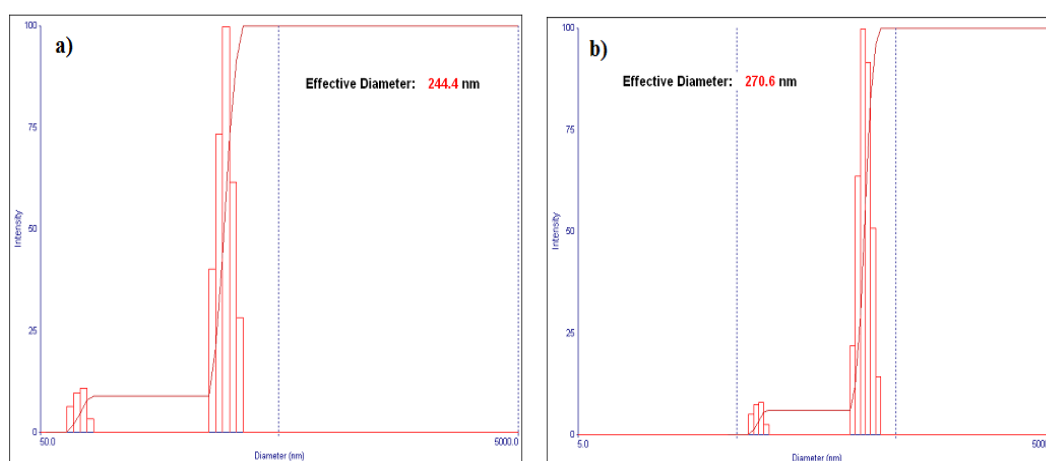


Figura 3.18. Histograma de distribución del diámetro hidrodinámico de: a) nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 1, b) nanopartículas de plata funcionalizadas con sangre de drago

En la Figura 3.18a se observa una distribución bimodal de tamaños, en donde el diámetro de las nanopartículas de plata corresponde a 244,4 nm, en el trabajo reportado por Sankar *et. Al* [50] el tamaño promedio de nanopartícula obtenido fue de 136 nm, esto debido a las condiciones de extracción y síntesis diferentes como ya se mencionó con anterioridad. En la Figura 3.18b, el diámetro de las nanopartículas de plata aumenta a 270,6 nm, lo cual se atribuye al recubrimiento adicional con sangre de drago. Si se hace referencia únicamente a los histogramas de mayor tamaño y se relacionan con las distintas formas propuestas para una curva Gaussiana; en la Figura 3.18b, se aprecia una tendencia mayor hacia la forma leptocurtica por tanto, se puede decir que la funcionalización confiere mayor homogeneidad en cuanto a los tamaños de nanopartículas, ya que se observa una menor polidispersidad.

A continuación, la Figura 3.19., presenta los histogramas de distribución del diámetro hidrodinámico para las nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2, así como también, el de su correspondiente funcionalización.

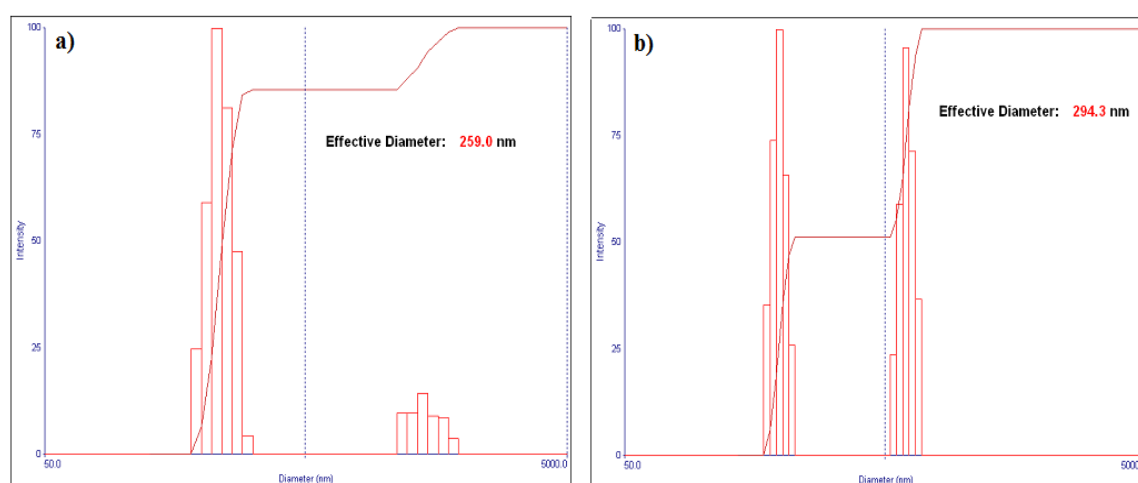


Figura 3.19. Histograma de distribución del diámetro hidrodinámico de: a) nanopartículas de plata sintetizadas por el Método 2, b) nanopartículas de plata funcionalizadas con sangre de drago

En este caso, en la Figura 3.19a se aprecia una distribución bimodal de tamaños cuyo diámetro alcanzado por las nanopartículas de plata es de 259,0 nm, en el trabajo reportado por Camacho & Deschamps [72] el tamaño promedio obtenido fue de 66 nm. Es necesario aclarar que para este fin las nanopartículas fueron aisladas y tratadas bajo condiciones específicas de centrifugación, pH, ultrasonido y reposo. En la Figura 3.19.b el diámetro es de 294,3 nm, lo cual se debe al recubrimiento adicional que ejerce la sangre de drago. Además, este recubrimiento, ayuda a homogenizar la distribución bimodal. Esto no quiere decir que la polidispersidad de las nanopartículas disminuye hasta el mínimo generando un solo tamaño de partícula sino que, el recubrimiento aparentemente ocurre de forma proporcional según el tamaño.

Haciendo referencia a los tamaños de partícula obtenidos según la técnica SEM reportados en la Tabla 3.2., se puede apreciar que los tamaños de nanopartícula seca siempre resultan ser menores que los tamaños hidrodinámicos medidos por DLS ya que esta técnica, mide el diámetro de las NPs junto con la capa eléctrica adherida a su superficie. Esta diferencia significativa, en cuanto al diámetro de partícula determinado por DLS, sugiere que durante la síntesis de nanopartículas de plata mediante los métodos 1 y 2, han quedado gran cantidad de restos de compuestos de los extractos de plantas, los mismos que interaccionan con la nanopartícula formada, incrementando así el grosor de la capa superficial. La Figura 3.20., da una percepción más clara del argumento mencionado.

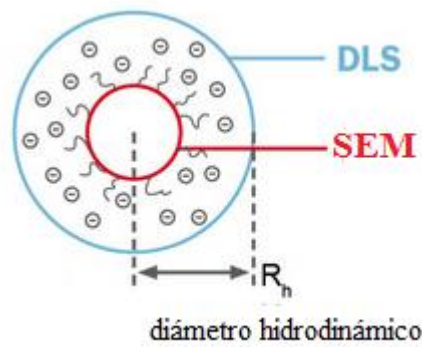


Figura 3.20. Diámetro hidrodinámico de medida mediante la técnica DLS [75]

En el siguiente esquema (Figura 3.21) se aprecia una posible representación del recubrimiento que tiene lugar en la nanopartícula por acción de los remanentes orgánicos de los extractos y de la funcionalización con el látex de sangre de drago

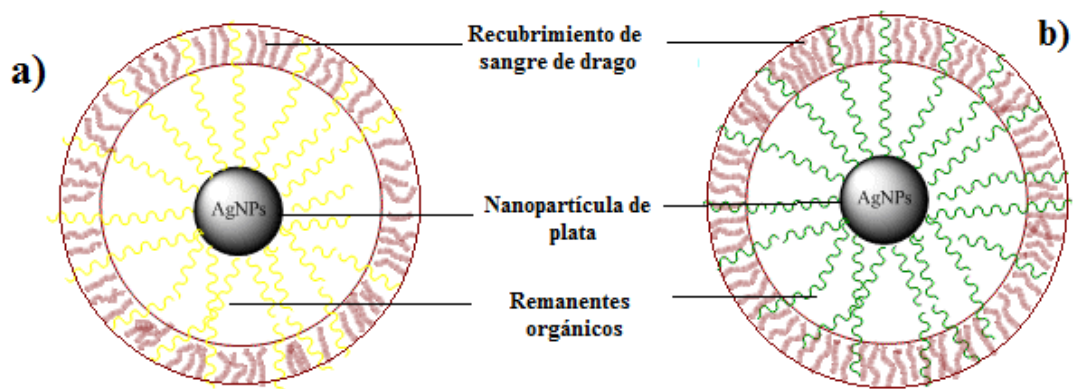


Figura 3. 21. Esquema referencial del posible recubrimiento de las nanopartículas de plata a) Método 1, b) Método 2

3.4.6. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA DE LLAMA (FAAS)

El análisis de la concentración de plata por FAAS se realiza con la finalidad de determinar si, efectivamente la cantidad de plata presente en las nanopartículas funcionalizadas y sin funcionalizar difiere como lo sugieren los resultados obtenidos en el análisis elemental por SEM/EDX.

La cantidad de plata final, se la determinó mediante interpolación en la ecuación de regresión lineal de la curva de calibración FAAS, la misma que se presenta en la Figura 3.22. Los detalles referentes al acondicionamiento del método se presentan en el Anexo 2.

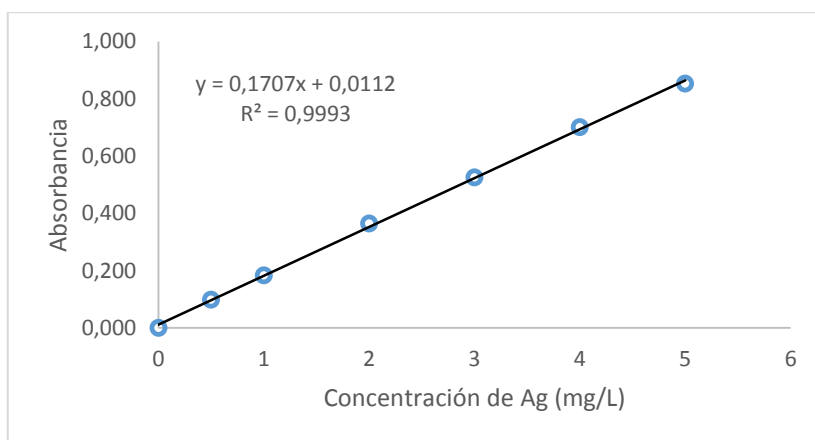


Figura 3.22. Curva de calibración de patrones de plata (0,0-5,0 ppm)

Se puede apreciar que el coeficiente de correlación (R^2) obtenido es cercano a la unidad, lo cual indica que efectivamente existe una dependencia lineal entre las variables de concentración y absorbancia. Por tanto, una interpolación en la curva permite obtener el

contenido real de plata con alta confiabilidad. El contenido de plata se especifica para cada método en la Tabla 3.6.

Tabla 3.6. Concentración final de plata en las nanopartículas funcionalizadas y sin funcionalizar

MÉTODO	Síntesis		Funcionalización	
	Menta	Cilantro	Menta	Cilantro
Absorbancia (UA)	0,167	0,153	0,167	0,153
Concentración (mg/L)	0,912	0,831	0,910	0,828
Factor de dilución (F.D)	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00
Concentración final (mg/L)	911,97	830,54	910,21	828,20

En la Tabla 3.7 se aprecian valores de la concentración de plata en términos de ppm, la cantidad del elemento difiere muy poco entre la síntesis y la funcionalización en cada Método. Es decir, no se evidencia pérdida alguna de la cantidad de plata presente, debido al proceso de recubrimiento de las nanopartículas.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

Se sintetizaron y caracterizaron nanopartículas de plata empleando nitrato de plata como precursor y como reductores, extractos acuosos de hojas de menta (*Origanum vulgare*) y cilantro (*Coriandrum sativum*). Además, se consiguió un recubrimiento efectivo de las nanopartículas sintetizadas empleando el látex de sangre de drago (*Croton lechleri*) como funcionalizante.

Usando extracto acuoso de hojas de menta como reductor, se obtuvieron nanopartículas de plata de forma esférica, moderada polidispersión, un tamaño promedio de 92 nm y una concentración de plata de 911,97 ppm en la síntesis; mientras que, en la funcionalización el tamaño no pudo ser determinado debido a la agregación que se da lugar en las nanopartículas de plata posterior a la mezcla con el látex de sangre de drago. Además, empleando la técnica DLS, se determinó que los diámetros hidrodinámicos de las nanopartículas de plata fueron 244,4 nm en la síntesis y para las nanopartículas funcionalizadas, 270,6 nm.

Las nanopartículas sintetizadas con extracto acuoso de hojas de cilantro como reductor, presentaron forma esférica, moderada polidispersión, un tamaño promedio de 50 nm y una concentración de plata de 830,54 ppm. En la funcionalización, estos valores fueron de 72

nm y 828,20 ppm respectivamente. Los diámetros hidrodinámicos de las nanopartículas de plata fueron 259,0 en la síntesis y 294,3 nm, en la funcionalización.

Al comparar los dos métodos de síntesis, se concluye que el Método 2 es el mejor, tomando en cuenta la estabilidad prolongada de las nanopartículas de plata, menor tamaño y menor polidispersidad.

Se determinó que, el tamaño promedio de las nanopartículas funcionalizadas resulta mayor con respecto al de las nanopartículas sin funcionalizar; sin embargo, su morfología y dispersión no se modifican en gran medida; por ende, las propiedades características de las nanopartículas de plata no se ven afectadas, confirmando así, un efecto sinérgico debido a las cualidades inherentes que posee el látex de sangre de drago. Además, no se evidencia pérdida alguna de la cantidad de plata presente, debido al proceso de recubrimiento de las nanopartículas. Por tanto, la funcionalización de las nanopartículas de plata, es viable para ambos métodos de síntesis.

4.2. RECOMENDACIONES

Se recomienda complementar el estudio con otras técnicas instrumentales de caracterización, tales como la Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM, por sus siglas en inglés) y la Microscopia de Fuerza Atómica (AFM, por sus siglas en inglés), las cuales permitan adquirir mayor información sobre las propiedades que presentan las nanopartículas de plata sintetizadas y funcionalizadas.

Se aconseja ensayar diferentes proporciones de la mezcla nanopartículas de plata- sangre de drago, con la finalidad de optimizar la funcionalización. Además, se recomienda emplear diferentes extractos de plantas como reductores, para verificar si la funcionalización sigue siendo viable.

Se plantea ampliar el estudio y ensayar la actividad bactericida que pueden presentar las nanopartículas de plata sintetizadas, así como también las nanopartículas funcionalizadas, en organismos de tipo patógeno.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Rai, M., Yadav, A. & Gade, A. (2008). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials, *Biotechnology Advances*, 27, pp 76-83.
- [2] Monge, M. (2009). Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas, *An. Quím*, 105, pp 33-41.
- [3] Aguilar, M. (2009). *Síntesis y caracterización de nanopartículas de Plata: Efecto sobre Colletotrichum gloesporioides*. Trabajo de Tesis Doctoral en Tecnología Avanzada, Instituto Politécnico Nacional, México.
- [4] Hornyak, G.L., Dutta, J., Tibbals, H.F. & Rao, A.K. (2008). *Intriduction to Nanocience*, CRC Press, USA, pp 4-6.
- [5] Instituto Nacional de Educación Tecnológica (INET). (2011). *Materiales y materias primas*, Argentina, pp 8-11.
- [6] Panigrahi, S., Praharaj, S., Basu, S., Ghosh, S. K., Jana, S., Pande, S., Vo-Dinh, T., Jiang, H. & Pal, T. (2006). Self-assembly of silver nanoparticles: Synthesis, stabilization, optical properties, and application in surface-enhanced Raman scattering. *Journal of Physical Chemistry B*, 110(27), pp 13436-13444.
- [7] Karimzadeh, R. Mansour, N., Sun, X. & Luo, Y. (2005). Preparation and size control of silver nanoparticles by a thermal method. *Materials Letters*, 59, pp 3847-3850.
- [8] López, J., Vilchis, A., Sánchez, V. & Avalos, M. (2013). Obtención y caracterización de nanopartículas de plata soportadas en fibra de algodón, *Superficies y Vacío*, 26(3), pp 73–78.

- [9] Universidad Autónoma de Madrid. (n.d). *Nanoquímica y Nanotecnología: Nuevos materiales, polímeros y maquinas moleculares*, España.
- [10] Mendoza, G. & Rodríguez, J. (2007). La nanociencia y la nanotecnología: una revolución en curso, *Latinoamericanos*, 29, pp 161-186.
- [11] Nanotecnología y Universidad. (2015). *Introducción a las nanociencias y nanotecnologías*, Argentina.
- [12] Leyva, G. (2013). Nanopartículas de plata: tecnología para su obtención, caracterización y actividad biológica, *Investigación en Discapacidad*, 2, pp 18-22.
- [13] Euroresidentes, (n.d). La importancia de la nanotecnología, https://www.euroresidentes.com/futuro/nanotecnologia/recursos_docentes/importancia-nanotecnologia.htm, 03 de junio del 2016.
- [14] Roco, M.C. y W. Bainbridge. (2002). Converging technologies for improving Human Performances: Integrating from the nanoscale, *Journal of Nanoparticle*, 4, pp 281-295.
- [15] Parashar, U., Saxena, S. & Srivastava, A. (2009). Bioinspired synthesis of silver nanoparticles. *Dig. J. Nanomat. Biostruct.*, 4, pp 159–166.
- [16] Turkevich, J., Cooper, P. & Hillier, J. (1951). A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold, *Discuss. Faraday Soc.*, 11, pp 55-75.
- [17] Schmid, G. (2004). *Nanoparticles. From Theory to Application*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., Alemania, pp 4-6, 50-65.
- [18] Kim, J. S., Kuk, E., Yu, K., Kim, J. H., Parks, S., Lee, H., Kim, S. H., Park, Y. K., Park, Y. H., Hwang, C., Kim, Y. K., Lee, Y., Jeong, D. & Cho, M. (2007). Antimicrobial effects

of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 3, pp 95-101.

[19] Lee, P.C. & Meisel, D.J. (1982). Adsorption and Surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols. *Phys. Chem.*, 86(17), pp 3391-3395.

[20] Creighton, J.A., Blatchford, C.G. & Albrecht, M.G. (1979). Plasma resonance enhancement of Raman scattering by pyridine adsorbed on silver or gold sol particles of size comparable to the excitation wavelength, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. II*, 75, pp 790-798.

[21] Flores, C. (2014). *Nanopartículas de plata con potenciales aplicaciones en materiales implantables: síntesis, caracterización fisicoquímica y actividad bactericida*. Trabajo de Tesis Doctoral, Universidad Nacional de la Plata, Argentina, pp 74-78.

[22] Ko, S., Choi, Y., Hwang, D., Grigoropoulos, C.P., Chungb, J. & Poulikakos, D. (2006). Nanosecond laser ablation of gold nanoparticle films, *Appl. Phys. Lett.*, **89**, pp 141126.

[23] Tsuji, T., Kakita, T. & Tsuji M. (2003). Preparation of nano-size particles of silver with femtosecond laser ablation in water, *Applied Surface Science*, 206, pp 314-320.

[24] Díaz, M. (2013). *Obtención de nanopartículas de plata por ablación laser soportadas en hilo de sutura de seda*. Tesis de Ingeniería Química, Universidad Autónoma del Estado de México, México, pp 36-38.

[25] Wu, H., Wang, Q., Yao, Y., Qian, C., Cao, P., Zhang, X. & Wei X. (2009). Microwave-assisted synthesis and highly photocatalytic activity of MWCNT/ZnSe heterostructures, *Materials Chemistry and Physics*, 113, pp 539-543.

[26] Zanella, R. (2012). Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño, *Mundo Nano*, 5, pp 69-81.

- [27] Slistan, A., Herrera, R., Rivas, J. F., Ávalos, M., Castellón, F. F. & Posada, A. (2008). Synthesis of silver nanoparticles in a polyvinylpyrrolidone (PVP) paste, and their optical properties in a film and in ethylene glycol. *Materials Research Bulletin*, 43, pp 90-96.
- [28] Roucoux, A., Schulz, J. & Patin, H. (2002). Reduced Transition Metal Colloids: A Novel Family of Reusable Catalysts?, *Chem. Rev*, 102, pp 3757-3778.
- [29] Balan L., Malval J.P., Schneider R. (2007). Silver nanoparticles: New synthesis, characterization and photophysical properties, *Chem. and Phys.*, 104, pp 417-421.
- [30] Raveendran, P., Fu, J. & Wallen, S. L. (2006). A simple and green method for the synthesis of Au, Ag, and Au-Ag alloy nanoparticles, *Green Chemistry*, 8, pp 34-38.
- [31] Huang, L., Zhai, M., Long, D., Peng, J., Xu, L., Wu, G., Li, J. & Wei, G. (2008). UV-induced synthesis, characterization and formation mechanism of silver nanoparticle in alkali carboxymethylated chitosan solution, *Journal of Nanoparticle Research*, 10, pp 1193-1202.
- [32] Prabhu, S., & Poulose, E. (2012). Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International Nano Letters*, 2, pp 32.
- [33] Jha, A., Prasad, K., Prasad, K., & Kulkarni, A. R. (2009). Plant system: Nature's nanofactory, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 73 (2), pp 219–223.
- [34] El cilantro. (n.d), <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/3835/3/T-ESPE-IASA%20I-004548.pdf>, 19 de abril del 2015.
- [35] Salazar, G. (2008). El Cilantro (*Coriandrum sativum*) como planta medicinal emergente. *InFármate*. Volumen, 3(17).

- [36] Brandl, M. T., & Mandrell, R. E. (2002). Fitness of *Salmonella enterica* serovar Thompson in the Cilantro Phyllosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, Volumen, 68(7), pp. 3614–3621.
- [37] Justesen, K. (2001). Composition of flavonoids in fresh herbs and calculation of flavonoid intake by use of herbs in traditional Danish dishes. *Food Chemistry*. Volumen, 73, pp. 245-250.
- [38] Cruz, J. (2012). *Síntesis de nanopartículas de plata funcionalizadas con péptidos análogos de lactoferrina con potencial antibiótico contra Escherichia coli O157:H7*. Tesis de Magister en Química, Universidad Industrial de Santander, Colombia, pp 46-50.
- [39] Tasis, D., Tagmatarchis, N., Bianco, A. & Prato, M. (2006). Chemistry of Carbon Nanotubes, *Chem. Rev.*, 106, pp 1105-1136.
- [40] Ahamed, M., Alsalhi, M.S. & Siddiqui, M.K. (2010). Silver nanoparticle applications and human health. *Clin Chim Acta.*, 411, pp 1841-1848.
- [41] Torres, G. (2013). *El aprovechamiento de la sangre de drago. Manual de buenas prácticas de recolección del látex*, Fundación Chankuap, Gráficas Iberia, Ecuador.
- [42] The Project on Emerging Nanotechnologies (PEN), Silver Nanotechnology, <http://www.nanotechproject.org/inventories/silver/>, 12 de enero del 2016.
- [43] Piao, M.J., Kang, K.A., Lee, I.K., Kim, H.S., Kim, S., Choi, J.Y., Choi, J. & Hyun, J.W. (2011). Silver nanoparticles induce oxidative cell damage in human liver cells through inhibition of reduced glutathione and induction of mitochondria-involved apoptosis. *Toxicol Lett.*, 201, pp 92-100.

- [44] Sun, R., Chen, R., Chung, N., Ho, C.M., Lin, C.L. & Che, C.M. (2005). Silver nanoparticles fabricated in Herpes buffer exhibit cytoprotective activities toward HIV-1 infected cells, *Chem. Commun.*, pp 5059-5061.
- [45] Ramos, M. & Castillo, C. (2011). Aplicaciones biomédicas de las nanopartículas magnéticas, *Ide@s CONCYTEG*, 6, pp 629-646.
- [46] Cheng, D., Yang, J. & Zhao, Y. (2004). Antibacterial materials of silver nanoparticles application in medical appliances and appliances for daily use, *Chin. Med. Equip. J.*, 4, pp 26-32.
- [47] University of Bath, (n.d). Revolutionary medical dressing uses nanotechnology to fight infection, <http://www.bath.ac.uk/news/2010/07/08/bacteriosafe-2/>, 16 de enero del 2016.
- [48] Zhou, W., Ma, Y.Y., Yang, H.A., Ding, Y. & Luo, X.G. (2011). A label-free biosensor based on silver nanoparticles array for clinical detection of serum p53 in head and neck squamous cell carcinoma. *Int. J. Nanomed.*, 6, pp 381–386.
- [49] Choi, K., Deng, N., Kim, L., Ross, R. & Surampalli, Z. (2008). The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth, *Water research*, 42, pp 3066–3074.
- [50] Sankar, R., Karthik, A., Prabu, A., Karthik, S., Shivashangari, K. & Ravikumar, V. (2013). *Origanum vulgare* mediated biosynthesis of silver nanoparticles for its antibacterial and anticancer activity, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 108, pp 80-84.
- [51] Sathyavathi, R., Balamurali Krishna1, M., Venugopal S., Saritha, R. & Narayana, D. (2010). Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using *Coriandrum Sativum* Leaf Extract and Their Application in Nonlinear Optics, *Advanced Science Letters*, 3, pp 1-6.

- [52] Hasan, M., Iqbal, J., Awan, U., Saeed, Y., Ranran, Y., Liang, Y., Dai, R. & Deng, Y. (2015). Mechanistic Study of Silver Nanoparticle's Synthesis by Dragon's Blood Resin Ethanol Extract and Antiradiation Activity, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 15, pp 1320-1326.
- [53] Wade, Jr. L. C. (2004). *Química Orgánica*, 5^{ta} edición, Pearson Education S.A., España, pp 490, 497.
- [54] Kapoor, S. (1998). Preparation, characterization and surface modification of silver nanoparticles, *Langmuir*, 14, pp 1021-1025.
- [55] Agilent Technologies. (2000). *Fundamentos de la espectroscopía UV-visible moderna*. Alemania, pp 2-55.
- [56] Skoog, D., Holler, F. & Nieman, T. (2001). *Principios de análisis instrumental*, 5^{ta} edición, McGraw-Hill, México, pp 219-224, 322-325, 335-347, 409-412, 414-427.
- [57] Universidad de Granada, (n.d). Estructura de Macromoléculas- Espectroscopia Biológica de Absorción, http://www.ugr.es/~olopez/estruct_macromol/IR/FTIR.pdf, 21 de enero del 2016.
- [58] Universidad Pedagógica Experimental Libertador-Sánchez, J. (2009). *Infrarrojo*, Venezuela.
- [59] Swarbrick, (2006). *Spectroscopy of Pharmaceutical Solids*, Taylor & Francis Group, USA, pp 246
- [60] Renau, J. & Faura, M. (n.d). *Principios Básicos del Microscopio Electrónico de Barrido*, Centro de Investigación-Hospital La Fé, España, pp 73-92.

- [61] Vázquez, A. & De Damborena, J. (2000). Ciencia e Ingeniería de la Superficie de los Materiales Metálicos, Raycar S.A, España, pp 487.
- [62] Blue Morph. (n.d). Microscopio Electrónico de Barrido (SEM), http://artsci.ucla.edu/BlueMorph/spanish_research4.html, 23 de enero del 2016.
- [63] Cuadros, A., Casañas, R., San Martín, E. & Yanez, J. (2014). Dispersión de luz dinámica en la determinación de tamaño de nanopartículas poliméricas, *Lat. Am. J. Phys. Educ.*, 8, pp 43141-43145.
- [64] Mansfield, E. (2015). Dynamic Light Scattering and other particle sizing techniques, <http://www.slideshare.net/EdwardMansfield1/dynamic-light-scattering-48645581>, 27 de febrero del 2016.
- [65] Harris, D. (2007). *Análisis Químico Cuantitativo*, 3^{ra} edición en español, Editorial Reverté, España, p 513.
- [66] Arias, M. (2008). *Desarrollo de procedimientos para la validación de métodos de análisis de metales en agua por espectrometría de absorción atómica*, Tesis de Ingeniería Química, Ecuador, p 25.
- [67] Remache, A. (2013). *Validación de métodos para el análisis de metales en diferentes matrices por espectrofotometría de absorción atómica*, Tesis de Ingeniería Química, Universidad Central del Ecuador, Ecuador, pp 26-32.
- [68] Solís, Y. (2013). *Validación de métodos analíticos para la determinación de boro, fluoruros y nitritos en agua mediante espectrofotometría de luz visible*, Tesis para optar por el título de Químico de Alimentos, Universidad Central del Ecuador, Ecuador, pp 4-31.

- [69] Instituto de Salud Pública, (2010). *Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: Aspectos generales sobre la validación de métodos*, Chile, pp 21-45.
- [70] Aroca, R. (2006). *Surface-enhanced vibrational spectroscopy*. John Wiley & Sons. University of Windsor, Canadá pp. 35-71.
- [71] Pradeep, T. (2012). *A Textbook of Nanoscience and Nanotechnology*, 1^{ra} edición, McGraw Hill, Nueva Deli.
- [72] Camacho, J. & Deschamps, L. (2013). *Síntesis de nanopartículas de plata y modificación con pulpa de papel para la aplicación antimicrobial*. Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Químico, Universidad de Cartagena, Colombia.
- [73] Dubey, S., Lahtinen, M. & Sillanpaa, M. (2010). Green synthesis and characterizations of silver and gold nanoparticles using leaf extract of Rosa Rugosa, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 364, pp 34-41
- [74] Levine, I. (1996). *Fisicoquímica: Química de superficies*, 2^{da} edición, McGraw-Hill, Madrid, pp. 379-405.
- [75] Crolly, G. (n.d). Diámetro hidrodinámico, <http://www.fritsch-sizing.es/enciclopedia/diametro-hidrodinamico/>, 27 de febrero del 2016.

ANEXOS

Anexo 1. Certificados de la identificación taxonómica de las plantas cuyos extractos se emplearon como agentes reductores para la síntesis de nanopartículas de plata.

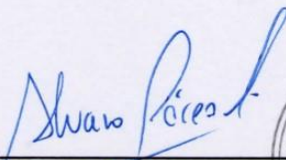
Quito, 21 de Mayo del 2015

CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN

El espécimen examinado corresponden a:

Origanum vulgare L.

-
- class: Equisetopsida C. Agardh
- subclass: Magnoliidae Novák ex Takht.
- superorder: Asteranae Takht.
- order: Lamiales Bromhead
- family: Lamiaceae Martinov
- genus: *Origanum* L.
- Nombre común: menta, oregano, oregano griego


Álvaro J. Pérez Castañeda

Curador de Angiospermas Herbario QCA



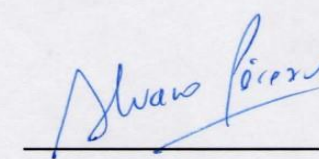
Quito, 21 de Mayo del 2015

CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN

El espécimen examinado corresponden a:

Coriandrum sativum L.

- class: Equisetopsida C. Agardh
- subclass: Magnoliidae Novák ex Takht.
- superorder: Asteranae Takht.
- order: Apiales Nakai
- family: Apiaceae Lindl.
- genus: *Coriandrum* L.
- Nombre común: culantro, cilantro



Álvaro J. Pérez Castañeda

Curador de Angiospermas Herbario QCA



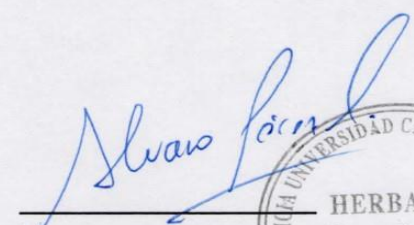
Quito, 21 de Mayo del 2015

CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN

El espécimen examinado corresponden a:

***Croton lechleri* Müll. Arg.**

- Clase: Equisetopsida C. Agardh
- Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
- Superorden: Rosanae Takht.
- Orden: Malpighiales Juss. ex Bercht. & J. Presl
- Familia: Euphorbiaceae Juss.
- Género: *Croton* L.
- especie: *lechleri* Mull. Arg.
- Nombre común: sangre de drago


Álvaro J. Pérez Castañeda

Curador de Angiospermas Herbario QCA



Anexo 2. Acondicionamiento del método para la determinación de plata por
espectrofotometría de absorción atómica de llama

CURVA DE CALIBRACIÓN

Tabla A2.1. Valores de absorbancia para cada concentración de los estándares de calibración

Concentración (mg/L)	Absorbancia (UA)
0,000	0,000
0,500	0,098
1,000	0,183
2,000	0,364
3,000	0,525
4,000	0,701
5,000	0,853
Coefficiente de correlación (R^2)	0,9993

REGRESIÓN LINEAL DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN, LINEALIDAD Y LÍMITES DE CONFIANZA

Tabla A2.2. Componentes de la ecuación de la recta de regresión lineal y límites de confianza

Ecuación de la recta	$y = 0,1707x + 0,0112$
Pendiente (a)	0,1707
Ordenada (b)	0,0112
Desviación de y sobre x ($S_{y/x}$)	0,0095
Desviación de la pendiente (S_a)	0,0021
Desviación del intercepto (S_b)	0,0058
Límites de confianza de la pendiente	a = $0,1707 \pm 0,0054$
Límites de confianza del intercepto	b = $0,0112 \pm 0,0149$

LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

Tabla A2.3. Absorbancia y concentraciones para los blancos

Blanco N°	Abs.	Concentración
1	0,008	-0,019
2	0,007	-0,025
3	0,007	-0,025
4	0,008	-0,019
5	0,008	-0,019
6	0,008	-0,019
7	0,007	-0,025
8	0,008	-0,019
9	0,008	-0,019
10	0,008	-0,019
Media (\bar{x})		-0,021
Desviación Estándar (s)		0,003
LOD		0,008
LOQ		0,028

Tabla A2.4. Absorbancia y concentraciones para los blancos reactivos

	Método 1		Método 2	
Blanco N°	Absorbancia (UA)	Concentración Ag (mg/L)	Absorbancia (UA)	Concentración Ag (mg/L)
1	0,001	<LOD	0,003	<LOD
2	0,001		0,002	
3	0,001		0,003	
4	0,001		0,003	
5	0,001		0,003	

FORTIFICACIONES APLICANDO ESTÁNDAR

Tabla A2.5. Recuperación de plata (Concentraciones de 1, 000 y 4,000 mg/L)

Repetición	Absorbancia (UA)	Concentración exp. Ag (mg/L)	Recuperación (%)	Media	Desviación estándar
Concentración teórica de plata 1,000 mg/L					
1	0,178	0,977	97,72	96,66	0,87
2	0,176	0,965	96,54		
3	0,176	0,965	96,54		
4	0,177	0,971	97,13		
5	0,174	0,954	95,37		
Concentración teórica de plata 4,000 mg/L					
1	0,702	4,047	101,17	100,73	0,34
2	0,697	4,018	100,44		
3	0,697	4,018	100,44		
4	0,701	4,041	101,03		
5	0,698	4,023	100,59		

PARA GRADOS ACADÉMICOS DE LICENCIADOS (TERCER NIVEL)

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Marcelo Alexander Salguero Salas, C.I. 1716426182, autor del trabajo de graduación titulado: “Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata usando como reductores extractos de menta (*Origanum vulgare*) y cilantro (*Coriandrum sativum*), y como funcionalizante el látex de sangre de drago (*Croton lechleri*)”, previa a la obtención del grado académico de LICENCIADO EN CIENCIAS QUÍMICAS CON MENCIÓN EN QUÍMICA ANALÍTICA en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.
2. Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.

Quito, 14 de septiembre de 2016

Sr. Marcelo Alexander Salguero Salas

C.I 1716426182